

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA**



TESIS

**MEDIADORES INMUNOLOGICOS
COMO BIOMARCADORES DE GRAVEDAD Y DE
PRONOSTICO EN PACIENTES CON ARTRITIS SEPTICA**

Por:

M.C. JORGE ARMANDO GONZALEZ CHAPA


Como requisito parcial para obtener el Grado de:

**DOCTORADO EN CIENCIAS
CON ORIENTACIÓN EN INMUNOLOGÍA**


Julio 2021

MEDIADORES INMUNOLÓGICOS COMO BIOMARCADORES DE GRAVEDAD
Y DE PRONÓSTICO EN PACIENTES CON ARTRITIS SÉPTICA

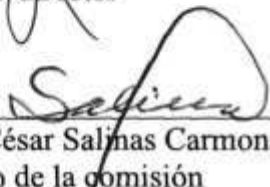
Aprobación de la Tesis:




Dr. C. Adrián G. Rosas Taraco
Director



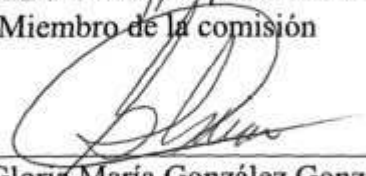
Dr. med. Víctor Manuel Peña Martínez
Co-director



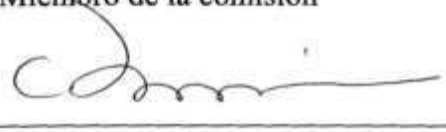
Dr. C. Mario César Salinas Carmona
Miembro de la comisión



Dr. C. Anna Velia Vázquez Marmolejo
Miembro de la comisión



Dr. C. Gloria María González González
Miembro de la comisión



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de estudios de posgrado

MEDIADORES INMUNOLÓGICOS COMO BIOMARCADORES DE GRAVEDAD
Y DE PRONÓSTICO EN PACIENTES CON ARTRITIS SÉPTICA

Presentado por: Jorge Armando Gonzalez Chapa

Este trabajo se realizo en el Departamento de Inmunologia de la Facultad de Medicina de la Universidad Autonoma de Nuevo Leon, bajo direccion del Dr. Adrian Geovanni Rosas Taraco y la co-direccion del Dr. Victor Manuel Peña Martinez con apoyo de PAICYT SA670-18 y 169.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios y a mi familia por el apoyo incondicional brindado no solo durante estos años sino siempre.

Al Dr. Adrián Rosas por su orientación, paciencia y apoyo a mi crecimiento profesional y personal.

Al Dr. Salinas Carmona por aceptarme en el programa y darme la oportunidad de estar en el Servicio de Inmunología.

Agradezco especialmente al Dr. Víctor Peña y al Dr. Vílchez Cavazos por la confianza puesta en mi y apoyo el cual nunca olvidare.

A la Dra. Gloria González y al Dr. Rogelio Treviño por apoyarme en todo momento durante el proyecto.

Agradezco a todos y cada uno de los profesores del Servicio de Inmunología por sus enseñanzas académicas y personales.

Agradezco especialmente al Dr. Gerardo Muñoz por confiar en mi y guiarme hace 6 años por este camino profesional, así como por su apoyo siempre brindado hacia mi persona.

Al Dr. Andrés Almaguer por su apoyo y por creer en mi siempre.

Agradezco especialmente a Azalia Castilla por todo su apoyo y paciencia durante estos años ya que gracias a ella se superaron muchas situaciones profesionales y personales.

A mi primo José Ángel Salazar por su apoyo y confianza.

Finalmente, pero no menos importante me gustaría agradecer a CONACYT por la beca otorgada (CVU/Becario 708282).

GRACIAS.

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo y esfuerzo a Dios y a mi familia.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	6
HIPÓTESIS.....	7
OBJETIVO GENERAL.....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
Estrategia general y grupos de estudio.....	9
Obtención y procesamiento de las muestras.....	10
Grado de la lesión articular en pacientes con artritis séptica.....	11
Análisis microbiológico.....	11
Subpoblaciones celulares en líquido sinovial.....	12
Análisis de citocinas y quimiocinas.....	12
Análisis de la alarmina HMGB1.....	13
Análisis bioquímico	13
Evaluación de la calidad de vida	13
Análisis estadístico.....	14
RESULTADOS	15
Características demográficas y clínicas de la población estudiada.....	15
Determinación del grado de lesión articular en pacientes con artritis séptica.....	17
Detección e identificación del agente etiológico de la artritis séptica.	17
Análisis de subpoblaciones celulares.	19
Evaluación de la calidad de vida.....	24
Evaluación del perfil sistémico y local de citocinas	25
Evaluación de la alarmina HMGB1 sistémica y local.....	30
Análisis bioquímico	32

<i>DISCUSIÓN</i>	36
<i>CONCLUSIÓN</i>	44
<i>PERSPECTIVAS</i>	45
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	46
<i>RESUMEN BIOGRÁFICO</i>	53

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Características de la población estudiada.....	16
TABLA 2. Análisis microbiológico.....	18
TABLA 3. Valores de WBC en pacientes y sujetos control.....	20
TABLA 4. Valores de WBC en pacientes con cultivo bacteriológico positivo y negativo.....	21
TABLA 5. Porcentaje de recuento celular en líquido sinovial de pacientes y controles	23
TABLA 6. Niveles de citocinas en suero de pacientes y sujetos control	26
TABLA 7. Niveles de citocinas en líquido sinovial de pacientes y sujetos control.....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Comparación entre la técnica de cultivo tradicional y el sistema automatizado BACTEC.....	19
FIGURA 2. Valores de VSG y PCR en sangre periférica en sujetos control y pacientes con artritis séptica con y sin agente etiológico aislado.....	22
FIGURA 3. Correlación entre IMC y VSG en pacientes con artritis séptica con cultivo positivo.....	22
FIGURA 4. Recuento celular con diferencial en líquido sinovial de controles y pacientes con y sin agente etiológico aislado.....	24
FIGURA 5. Valoración de la encuesta de salud SF-36 en la población estudiada	25
FIGURA 6. Correlación de la puntuación WOMAC con IL-6 sérica un año después del día de reclutamiento de los pacientes.....	28
FIGURA 7. Niveles de citocinas asociadas con edad, % neutrófilos y evolución clínica.....	28
FIGURA 8. Correlación de los niveles de citocinas locales y sistémicas con la encuesta de salud SF-36 en el día del reclutamiento de los pacientes.....	29
FIGURA 9. Correlación de los niveles de citocinas locales y sistémicas con la encuesta de salud SF-36 un año después del reclutamiento.....	30
FIGURA 10. Concentraciones de HMGB1 en la población estudiada.	31
FIGURA 11. Correlación de la puntuación WOMAC con las concentraciones de HMGB1 séricas un año después del día de reclutamiento.....	31
FIGURA 12. Correlación de los niveles de citocinas locales con la concentración de glucosa en líquido sinovial.....	32
FIGURA 13. Niveles de glucosa en líquido sinovial y clasificación de Outerbridge.....	32
FIGURA 14. Comparaciones de concentraciones de glucosa en líquido sinovial y suero de controles y pacientes.....	33

**FIGURA 15. Comparaciones entre los niveles de esterasa leucocitaria
y pH en líquido sinovial.....34**

**FIGURA 16. Análisis de la curva ROC entre los niveles PCR, VSG,
glucosa y pH en pacientes con cultivo positivo.....35**

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

AS- Artritis Séptica

LS- Líquido Sinovial

VSG- Velocidad de Sedimentación Globular

PCR- Proteína C Reactiva

LE- Esterasa Leucocitaria

HMGB1- High Mobility Group Box 1

WOMAC- Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index

SF-36- RAND 36-Item Short Form Health Survey

WBC- White Blood Cells

KO- Knock Out

IMC- Índice de Masa Corporal

IQR- InterQuartile Range

MRSA- Meticilin Resistant *Staphylococcus aureus*

AUC- Area Under the Curve

DPI- Days Post Infection

PMN- Polymorphonuclear

OA- Osteoarthritis

RESUMEN

Antecedentes: La artritis séptica se considera una urgencia médica por la alta morbilidad y mortalidad que puede ocasionar. Los agentes etiológicos más comunes de la enfermedad son las bacterias, las cuales tienen un alto metabolismo de glucosa. Estos patógenos activan la respuesta inmune local coordinada por citocinas; sin embargo, se sabe poco sobre el perfil bioquímico y de citocinas en la artritis séptica humana.

Objetivo: Determinar la asociación de los perfiles de citocinas y parámetros bioquímicos locales y sistémicos con la gravedad y el pronóstico de los pacientes con artritis séptica.

Material y métodos: Se examinaron prospectivamente a pacientes adultos con artritis séptica. Como grupo de control, se incluyeron adultos con articulaciones no infectadas. Se tomaron muestras de líquido sinovial y se realizaron análisis microbiológicos. Los niveles de glucosa, pH, esterase leucocitaria y niveles de citocinas se midieron en el líquido sinovial utilizando un glucómetro, tiras reactivas colorimétricas y análisis multiplex. Se recolectaron muestras de sangre de ambos grupos para determinar los niveles de glucosa. Se utilizaron muestras de líquido sinovial para el análisis histológico. El daño osteocondral y el estado de salud general y la calidad de vida (SF-36) se evaluaron durante el día del reclutamiento. La puntuación del índice de osteoartritis WOMAC y el cuestionario SF-36 se utilizaron un año después del día del reclutamiento como seguimiento.

Resultados: Se incluyeron 8 sujetos con lesiones de ligamentos de rodilla, 6 con lesiones de menisco y 5 con osteoartritis como grupo control, así como 20 pacientes con artritis séptica. El cultivo de líquido sinovial fue positivo en el 60%. Los niveles de glucosa local de los pacientes fueron más bajos que los controles ($P = 0.0018$) con la concentración más baja en pacientes con un cultivo positivo ($P = 0.0004$). Los niveles de glucosa en sangre y líquido sinovial de los pacientes con cultivo positivo se vio afectada ($P < 0.0001$). La esterase leucocitaria presentó los valores más altos en los pacientes con cultivo positivo ($P < 0.0001$) y se encontró un pH más ácido en comparación con el grupo control ($P < 0.0001$). Se observó un perfil de citocinas proinflamatorias sistémicas y locales en los pacientes con la enfermedad en comparación con el grupo de control ($P < 0.05$). IL-6 fue 28 y 525 veces mayor que los controles en sueros y líquido sinovial, respectivamente ($P < 0.0001$). La IL-6 sistémica se correlacionó negativamente con la puntuación de salud mental general ($P = 0.0184$) y se asoció con un índice de osteoartritis más alto después de un año de seguimiento en los pacientes ($P = 0.0352$). HMGB1 en líquido sinovial se encontró más alto en pacientes con artritis séptica ($P < 0.0001$), y se asoció con daño osteocondral ($P = 0.0042$). El TNF- α en líquido sinovial se correlacionó negativamente con el cuestionario SF-36 un año después del reclutamiento del paciente en la puntuación de limitación de funciones ($P = 0.0318$), la puntuación de dolor corporal ($P = 0.0315$) y la puntuación de salud mental general ($P = 0.0197$).

Conclusión: Los niveles de glucosa y otros parámetros bioquímicos podrían ser un valor agregado del diagnóstico útil rápido y económico para distinguir entre enfermedad articular infecciosa y no infecciosa. Además, un perfil de citocinas sistémico y local se asocian con la gravedad y el pronóstico de la enfermedad.

ABSTRACT

Background: Septic arthritis is considered a medical emergency due to high morbidity and mortality it can cause. The most common etiological agents of the disease are glucose consuming bacteria, which activate the local immune response coordinated by cytokines; however, little is known about the cytokine and biochemical profile in human septic arthritis.

Aim: To determine the association of local and systemic cytokine profiles and biochemical parameters with the severity and prognosis of patients with septic arthritis.

Material and methods: We prospectively examined adult patients with septic arthritis. As control group, adults with uninfected joints were enrolled. Synovial fluid samples were taken, and microbiological analyses were made. Synovial fluid glucose levels, pH, leukocyte esterase and cytokines levels were measured using a glucometer, colorimetric test strips and multiplex analysis. Blood samples were collected from both groups for determining glucose levels. Synovial fluid samples were used for histological analysis. Osteochondral damage and general health status and quality of life (SF-36) were evaluated during recruitment day. WOMAC osteoarthritis index score and SF-36 questionnaire were used a year after recruitment day as a follow up.

Results: We included 8 subjects with knee ligaments lesions, 6 with meniscus lesions and 5 with osteoarthritis as control group, as well as 20 patients with septic arthritis. Synovial fluid culture was positive in 60%. Synovial fluid glucose levels from patients were lower than the controls ($P=0.0018$) with the lowest concentration in patients with a positive culture ($P=0.0004$). Blood and synovial fluid glucose levels from the positive culture patients were impaired ($P<0.0001$). Leucocyte esterase presented the highest values in positive culture patients ($P<0.0001$) and a more acidic pH was found compared to the control group ($P<0.0001$). A systemic and local proinflammatory cytokine profile was found in patients compared to the control group ($P<0.05$). IL-6 was 28 and 525 times higher than controls in sera and synovial fluid, respectively ($P<0.0001$). Systemic IL-6 correlated negatively with general mental health score ($P=0.0184$) and was associated with a higher osteoarthritis index after one year follow-up in the patients ($P=0.0352$). HMGB1 in synovial fluid was found higher in patients ($P<0.0001$), and it was associated with osteochondral damage ($P=0.0042$). TNF- α in synovial fluid correlated negatively with SF-36 questionnaire one year after patient's recruitment in role limitation score ($P=0.0318$), body pain score ($P=0.0315$), and general mental health score ($P=0.0197$).

Conclusion: Glucose levels and other biochemical parameters might be a quick and inexpensive useful diagnostic added value for distinguishing between infective and not infective joint disease. Additionally, serum and synovial fluid cytokine signatures are associated with disease severity and prognosis.

INTRODUCCIÓN

La artritis séptica es una enfermedad articular rápidamente destructiva con pérdida de componentes articulares cruciales como los glicosaminoglicanos dentro de las primeras 8 horas de su establecimiento (1); es una emergencia médica que tiene una alta carga sanitaria que se ha ido incrementando en los últimos años (2). La incidencia estimada se sitúa en torno a 2-10 por 100.000 habitantes (3, 4); sin embargo, esto puede aumentar 15 veces en pacientes con artritis reumatoide (5-7). Esta enfermedad suele ser secundaria a la diseminación bacteriana hematógena a la articulación que causa una infección encapsulada local la cual conduce a una rápida degradación del cartílago y pérdida de hueso subcondral (8).

Los principales factores de riesgo de la artritis séptica incluyen enfermedades articulares preexistentes, como la artritis reumatoide, y otras enfermedades, como la diabetes (9). En más de la mitad de los casos el agente causal más común en todas las edades es *Staphylococcus aureus* (10); sin embargo, se ha afirmado que el patógeno no se puede identificar en casi el 40% de los casos (11) y se ha asociado con una estancia hospitalaria más prolongada y una mayor mortalidad (12). Una vez que el patógeno se establece en la articulación, factores de virulencia artritogénicos, como adhesinas, toxinas y superantígenos (13, 14), desencadenarán una respuesta inmune local que puede conducir a la eliminación de patógenos; sin embargo, pueden ocurrir consecuencias desastrosas e irreversibles, generando un mal resultado con altas tasas de morbilidad y mortalidad (3).

Las citocinas son proteínas secretadas que modulan la respuesta inmune. Las variaciones de estos niveles de proteínas impactan directamente en el proceso inflamatorio, en el que la regulación es sumamente importante. El término "arma de doble filo" se ha utilizado para describir las consecuencias favorables y desfavorables de la respuesta de las citocinas (15).

Durante la enfermedad, el papel de las citocinas como moduladores de la respuesta inmune se ha estudiado principalmente en modelos animales en los que las proinflamatorias locales como la IL-17 (16, 17), IL-6, e IFN- γ (18) están involucrados durante la fase erosiva de la enfermedad. Junto con IL-1 y TNF- α , estas citocinas se consideran altamente osteoclastogénicas y probablemente serán la principal causa de resorción ósea en la articulación (19-21). Los efectos de las citocinas no sólo se focalizan localmente; sus concentraciones también pueden tener repercusiones sistémico-psicológicas, ya que se ha demostrado que sus variaciones afectan la salud mental (22) e impactan la calidad de vida (23). Se sabe poco acerca de los perfiles de citocinas sistémicas y locales en la artritis séptica humana.

La identificación rápida de la articulación infectada es fundamental para preservar la función articular y evitar un gran número de complicaciones relacionadas con la enfermedad; sin embargo, a veces tanto la presentación clínica como los parámetros de las pruebas de laboratorio no son lo suficientemente claros para un diagnóstico preciso (24). Los parámetros más utilizados, además de la presentación clínica de la enfermedad, son la proteína C reactiva (PCR), la velocidad de sedimentación globular (VSG), el recuento de glóbulos blancos (WBC) y el cultivo de bacterias (25), que se pueden realizar en líquido sinovial y sangre. Estudios recientes han demostrado la probable capacidad diagnóstica de ciertos marcadores bioquímicos del líquido sinovial durante la artritis séptica, como la glucosa y la esterasa leucocitaria (26-28). El líquido sinovial y la sangre de sujetos sanos contienen una concentración de glucosa casi equivalente (29); durante un proceso inflamatorio-infeccioso, las células inmunes demandan un mayor consumo de nutrientes, como la glucosa para su metabolismo (30). Los granulocitos, como los neutrófilos, contienen grandes depósitos de glucógeno que pueden usarse como combustible intracelular cuando los niveles de glucosa extracelular son limitados (31). Debido a este hecho, y a que algunas bacterias, como *Staphylococcus aureus*, tienen transportadores de carbohidratos únicos que facilitan la absorción máxima de azúcares del huésped (32), la concentración de glucosa en el líquido sinovial podría ser un reflejo del alto metabolismo de las bacterias.

En este estudio, se evaluó la asociación de marcadores bioquímicos en el líquido sinovial y suero como la glucosa, la esterasa leucocitaria y el pH así como un perfil de citocinas pro y antiinflamatorias, a nivel sistémico y local, con la gravedad y el pronóstico en pacientes con artritis séptica.

ANTECEDENTES

Tarkowski y colaboradores decidieron emprender uno de los primeros estudios relacionados a artritis séptica enfocado en la IL-4, donde observaron que los ratones knock-out (KO) para el gen de IL-4 y artritis séptica presentaron una menor mortalidad comprado con el grupo control (33). Años más tarde el mismo grupo de investigadores decidió estudiar el rol de la IL-10. En ese estudio los ratones IL-10 KO presentaron un mayor grado de destrucción articular con mayor sinovitis y destrucción osteocondral; probablemente debido a un dominio de la respuesta Th, la cual estaría combatiendo la infección, pero con un grado de inflamación tan alto que estaría dañando al mismo hospedero (34). Debido a la falta de resultados concluyentes en el estudio de la respuesta Th2, el mismo grupo de investigadores decidió estudiar el rol de TNF y la linfotoxina α como parte de la respuesta inflamatoria Th1. En este estudio observaron que el grado de destrucción articular era dos veces mayor en aquellos ratones controles, comparados con aquéllos deficientes para TNF y la linfotoxina α ; sin embargo, estos últimos tenían mayor porcentaje de mortalidad (35). En el año de 1999, Bistoni y colaboradores compararon los niveles de IL-1 β , IL-6 y TNF- α en suero y líquido sinovial observando una mayor concentración de dichas citocinas en ambos tipos de muestras a los 10 días post-infección (36). Además, encontraron también que al administrar pentoxifilina, los valores de las citocinas inflamatorias disminuían drásticamente y presentaban un menor grado de afección articular, comparado con los ratones sin tratamiento; confirmando los hallazgos de otros investigadores quienes habían asociado estas citocinas con destrucción ósea y condral (36).

La IL-12 es una citocina involucrada en la polarización de linfocitos Th0 a Th1, la cual no había sido estudiada hasta el momento en esta patología, por lo que Tarkowski demostró que aquellos animales deficientes de IL-12 presentaban una mayor mortalidad (37). Dado los resultados obtenidos los mismos investigadores analizaron el IL-1R; sin embargo, los resultados obtenidos fueron similares a los anteriores, presentando mayor mortalidad en aquellos ratones con la inhibición del receptor, lo que ocasionó sepsis en el

modelo animal estudiado (38); este mecanismo fue demostrado años más tarde por Ali y colaboradores (39).

En humanos existen pocos estudios y algunos de ellos cuentan con un número reducido de pacientes y controles poco confiables. En el 2004 Van Damme y colaboradores demostraron que CXCL9, CXCL10 y CXCL11 estaban involucrados en la inmunopatología de la artritis séptica, y más aún que los fibroblastos presentes en la articulación eran los responsables de su producción (40, 41). Esto originó la idea de que no sólo células de la respuesta inmune participan en la inflamación y la respuesta hacia el patógeno, sino que también células presentes en el microambiente como los fibroblastos (42-44) o condrocitos (45-47) son capaces de reaccionar y despertar una respuesta inmunológica mediante la comunicación intercelular de citocinas y quimiocinas.

Debido a la gran cantidad de diagnósticos diferenciales de la artritis séptica y al pobre pronóstico de los pacientes sin tratamiento oportuno, Taher y colaboradores investigaron en seres humanos un biomarcador sensible y específico para diferenciar una artritis infecciosa de una no infecciosa (48). Para ello, tomaron en cuenta varios parámetros estudiados en años anteriores realizando una curva ROC para encontrar un biomarcador, siendo la procalcitonina el mejor, debido a su elevación en aquellos pacientes con una artritis bacteriana. Tomando en cuenta la alta presencia de neutrófilos activados en la articulación y en circulación debido a la infección, Oppegaard y su grupo analizaron un receptor de superficie celular altamente expresado en neutrófilos activados como biomarcador (CD64), obteniendo resultados favorables al compararlo con otros probables biomarcadores como la PCR, VSG y la misma procalcitonina antes descrita (49). Lo anterior, llevó a un mayor estudio de probables biomarcadores como la IL-6 (50), IL-17 (51) e incluso a intentar establecer perfiles de citocinas completos sin resultados concluyentes (52). La enfermedad puede llevar a un síndrome autoinflamatorio y en su mayoría es debido a una mala regulación de la activación del inflammasoma (53). Los tratamientos específicos de la inhibición de la respuesta inflamatoria no tenían resultados concluyentes y la mayoría causaba una elevación del riesgo de infecciones en los pacientes (54). Por lo tanto, Mohamed y colaboradores decidieron cambiar el enfoque del estudio

de la artritis séptica, y así estandarizaron una prueba rápida de glucosa (26, 55), carbohidrato que es utilizado por la bacteria para su metabolismo. Ellos concluyeron que podría ser de utilidad para establecer un diagnóstico oportuno y mejorar así el pronóstico de la enfermedad. Uno de los estudios más importantes en la búsqueda de biomarcadores fue realizado por Lenski y su equipo de trabajo, quienes analizaron a 719 pacientes, encontrando que la cantidad de leucocitos y los valores de lactato deshidrogenasa en líquido sinovial, así como la PCR en suero son los mejores marcadores inflamatorios que ayudaban al diagnóstico de la enfermedad (56). Dada la poca información de la artritis séptica, el entendimiento del papel de la respuesta inmune en la enfermedad ayudará a esclarecer la inmunofisiopatología de la misma para el pronóstico y disminución de complicaciones en los pacientes. Esta respuesta es orquestada por citocinas, quimiocinas, alarminas, factores propios del patógeno, así como ciertos miRNA presentes en el microambiente.

El líquido sinovial es particularmente importante en el diagnóstico oportuno de las enfermedades articulares, en especial de la artritis séptica; en la cual el pronóstico es proporcional al retraso del diagnóstico. La colaboración entre el área básica y el área clínica en este análisis puede proporcionar información de utilidad para el bienestar del paciente.

JUSTIFICACIÓN

La alta morbilidad y el pobre pronóstico hacen de la artritis séptica una enfermedad de importancia médica, acompañadas del deficiente conocimiento inmunopatológico. Por lo que es necesario estudiar los mediadores inmunológicos que identifiquen biomarcadores de gravedad y pronóstico en la enfermedad.

HIPÓTESIS

Los mediadores inmunológicos son biomarcadores útiles para establecer la gravedad y el pronóstico de pacientes con artritis séptica.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si los mediadores inmunológicos son biomarcadores de gravedad y de pronóstico en pacientes con artritis séptica

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el grado de la lesión articular en pacientes con artritis séptica.
2. Detectar e identificar el agente etiológico de la artritis séptica.
3. Determinar si las subpoblaciones celulares en el líquido sinovial se asocian con la gravedad y el pronóstico en artritis séptica.
4. Analizar el papel de las citocinas y quimiocinas en el líquido sinovial y suero como biomarcadores de gravedad y pronóstico en artritis séptica.
5. Investigar el papel de la alarmina HMGB1 en líquido sinovial y suero como biomarcador de la gravedad y pronóstico en artritis séptica.
6. Correlacionar el análisis macroscópico y bioquímico del líquido sinovial y suero con la gravedad y el pronóstico de la artritis séptica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estrategia general y grupos de estudio

Se incluyó un grupo control de sujetos con lesiones de meniscos no infecciosas, así como pacientes de población adulta con diagnóstico de artritis séptica bacteriana atendidos en la consulta del Servicio de Traumatología y Ortopedia del Hospital, Universitario José Eleuterio González. Tomando en cuenta que la incidencia anual de este tipo de padecimientos en nuestro hospital es de aproximadamente 20-25 pacientes y para obtener un nivel de confianza del 95% y un margen de error del 10%, la n total fue 38 pacientes por lo que se decidió incluir 39 tomando en cuenta los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

- > 18 años sin importar el género
- Diagnóstico clínico de artritis séptica
- Valores de VSG ≥ 40 mm/h
- Valores de PCR ≥ 1 mg/L
- Conteo de leucocitos en suero $\geq 12.0 \times 10^9$ /L

Criterios de exclusión:

- Pacientes < 18 años
- Pacientes tratados 2 semanas antes con antibióticos
- Tratamiento con esteroides 2 semanas antes
- Pacientes con sinovitis transitoria o artritis no infecciosa.

Criterios de eliminación:

- Baja cantidad de muestra
- Mala calidad de la muestra
- Información incompleta de expediente clínico
- Artritis séptica no bacteriana

Criterios de inclusión al grupo control:

- Sujetos adultos sin género en específico con lesión en meniscos de rodilla las cuales sean sometidas a procedimiento quirúrgico terapéutico, sin artritis infecciosa bacteriana, artritis inflamatoria o infección sistémica conocida.

A cada uno de los pacientes y sujetos controles reclutados se les informó acerca del protocolo de investigación, mediante el consentimiento informado, para su autorización de participación en el mismo. A cada paciente y sujetos controles reclutados se les realizó una historia clínica para la recopilación de datos médicos, los cuales también fueron utilizados como variables del estudio.

Se realizó una revisión clínica a cada uno de los pacientes un año después de su reclutamiento para determinar la presencia de alguna complicación o secuela de la artritis séptica la cual tuviera que ser referida al servicio de Ortopedia y Traumatología, esto mediante los cuestionarios Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) y RAND 36-Item Short Form Health Survey (SF-36). En el caso de que los pacientes no pudieran acudir a su revisión clínica se realizó la misma encuesta vía telefónica para poder así determinar la presencia de complicaciones.

Este estudio fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional local y el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UANL con el número de registro IN18-00004.

Obtención y procesamiento de las muestras.

Se obtuvieron de 5-10 ml de líquido sinovial de la articulación afectada mediante artrocentesis o artrotomía con técnica aséptica, esto durante la estancia de los pacientes en la consulta externa del Servicio de Ortopedia y Traumatología o del Servicio de Urgencias del Hospital Universitario José Eleuterio González. La muestra se transportó a temperatura ambiente y fue dividida en 3 partes:

- Se distribuyó de 1-5 ml en 2 tubos de hemocultivo para el análisis microbiológico.
- Se colocó 1-5 ml en un tubo con heparina para análisis inmunológico.
- Se dispensó 1-2 ml en un tubo con fluoruro sódico para análisis de bioquímico.

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de pacientes y sujetos controles recolectadas en tubos con heparina para utilizar los plasmas.

Las muestras se transfirieron al laboratorio dentro de los primeros 30 minutos de recolección para su posterior centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Los sobrenadantes se almacenaron como reservas congeladas a -80 ° C hasta el ensayo de citocinas.

Grado de la lesión articular en pacientes con artritis séptica.

Un cirujano ortopédico utilizó la clasificación de Outerbridge para calificar la lesión osteocondral. El sistema asigna una calificación entre 0 y IV. El grado 0 significa cartílago normal. El grado I se caracteriza por hinchazón y ablandamiento condral. El grado II describe una fisura que no supera los 0.5 pulgadas de diámetro ni alcanza el hueso subcondral. El grado III es una fisura de más de 0.5 pulgadas con un área que llega al hueso subcondral. El grado IV, que es el grado más severo de la clasificación, describe una erosión del cartílago que expone el hueso subcondral. Además, un año después se realizó la puntuación del índice de osteoartritis de las universidades de Western Ontario y McMaster (WOMAC) para determinar el índice de osteoartritis; una puntuación más alta indica un daño por artrosis más severo.

Análisis microbiológico

Las muestras se transportaron en un tubo estéril para su análisis microbiológico; se utilizaron dos métodos de cultivo diferentes para detectar el crecimiento bacteriano en las muestras. Para la técnica tradicional, se inocularon asépticamente 1-3 ml de líquido sinovial en viales de hemocultivo de caldo Brucella (Difco, Detroit, MI, EE. UU.). Los viales inoculados se incubaron a 37 ° C durante 72 h . El tiempo de incubación pudo haber sido menor en caso de que la turbidez del vial fuera evidente. Finalmente, se tomó una alícuota de 1 mL del vial para el cultivo bacteriano y la tinción de Gram directa.

Las muestras también se procesaron en paralelo en un sistema de cultivo automatizado

utilizando el instrumento BD BACTEC FX40 (Becton Dickinson), en donde se inocularon asépticamente 1-3 ml de líquido sinovial en viales de cultivo de medio BD Peds Plus (Becton Dickinson, Berkshire, Reino Unido), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los viales inoculados se incubaron en el instrumento siguiendo el protocolo estándar de 7 días. Si el instrumento detectaba crecimiento microbiano, en términos de lecturas de fluorescencia, se activaba una alarma y se retiraba el vial para su análisis posterior. Al final del período de incubación, y sin las alarmas activadas, los viales restantes se retiraron del instrumento y se notificaron como negativos. Se tomó una alícuota de 1 mL de los viales positivos en el momento de la detección para el cultivo bacteriano y la tinción de Gram directa.

Para ambos métodos de cultivo microbiológico, todas las alícuotas se centrifugaron a 4.000 rpm durante 10 min. Los sobrenadantes se decantaron de forma segura y los sedimentos se suspendieron en 250 µl de solución salina estéril. Finalmente, se esparcieron 50 µl de cada suspensión bacteriana sobre agar sangre (BA), agar sangre azida (ABA), agar chocolate (CHA) y agar eosina azul de metileno (EMBA). Las placas inoculadas se incubaron a 37 ° C durante 72 h, con 10% de CO₂ sólo para BA y CHA. Los aislados bacterianos se identificaron mediante sistemas bioquímicos convencionales y se almacenaron como reservas congeladas a -20 ° C en caldo nutritivo suplementado con glicerol al 20%.

Subpoblaciones celulares en líquido sinovial

La tinción de Giemsa también se realizó en muestras de líquido sinovial para determinar el porcentaje de leucocitos polimorfonucleares (PMN).

Análisis de citocinas y quimiocinas

Se utilizaron muestras de suero y líquido sinovial de pacientes con artritis séptica y sujetos controles para determinar los niveles de citocinas utilizando un kit de R&D Systems Inc. (McKinley Place NE, MN) para 7 citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias (GM-CSF, IL-1 β, IL-10, IL-17A, IL-6, IL-8 y TNF-α), siguiendo las instrucciones del

fabricante. Los resultados se leyeron en un sistema Bio-Plex® 200 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA).

Análisis de la alarmina HMGB1

Se usaron muestras de suero y líquido sinovial de pacientes con artritis séptica y sujetos controles para determinar HMGB1 usando un kit ELISA humano HMGB1 (Novus Biologicals, Centennial, CO. NBP2-62766) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Análisis bioquímico

Los niveles de glucosa en líquido sinovial, pH y esterasa leucocitaria se midieron como parámetros bioquímicos utilizando un glucómetro (LifeScan OneTouch UltraEasy, Milpitas, California) y tiras reactivas colorimétricas (Erba Mannheim Dekaphan Laura, Londres Reino Unido) siguiendo las instrucciones del fabricante. También se realizó la tinción de Giemsa para determinar el porcentaje de leucocitos polimorfonucleares (PMN). Se recolectaron muestras de sangre periférica de pacientes y sujetos controles para medir parámetros inflamatorios, infecciosos y bioquímicos como PCR, VSG y recuento de WBC. Las concentraciones de glucosa en sangre se determinaron como pruebas de laboratorio de rutina.

Evaluación de la calidad de vida

Para evaluar el estado de salud general y la calidad de vida de cada paciente, un médico aplicó la Encuesta de salud de Formulario Corto de 36 elementos de RAND (SF-36), al momento del reclutamiento del paciente y un año después de la inclusión. En resumen consiste en evaluar ocho puntuaciones de escala, cada una tiene una puntuación de 0 a 100, cuanto menor sea la puntuación, mayor será la afección del paciente; a mayor puntuación, menor será la discapacidad. Esta encuesta considera el funcionamiento físico, la limitación de funciones debido a la salud física, el dolor corporal, el funcionamiento social, la salud mental general, las limitaciones de funciones debido a problemas

emocionales, la vitalidad, la percepción de salud general y la salud, en comparación con las puntuaciones del año pasado, como parte de la evaluación.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se realizaron correlaciones entre las diferentes variables estudiadas con la gravedad y el pronóstico de la artritis séptica de los pacientes. Las variables obtenidas del expediente clínico de cada paciente, así como de los resultados obtenidos, se agruparon en 2 categorías: Pacientes y controles sanos. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando GraphPad 8 (GraphPad Software, San Diego, CA). Se utilizó la prueba de Mann-Whitney y los resultados se expresan como medianas con un IQR de 25-75%. Para analizar más de 2 grupos se implementó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con la prueba de Comparación Múltiple de Dunn. Se utilizó el coeficiente de rango de Spearman para el análisis de correlación. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Características demográficas y clínicas de la población estudiada.

En este estudio se incluyeron 32 pacientes con sospecha de artritis séptica. 20 de los cuales cumplieron los criterios para continuar en el protocolo de investigación. Además, se reclutaron 19 sujetos controles como el grupo no infeccioso, en 8 (42%) de los cuales se observaron lesiones del ligamento de la rodilla, en 6 (31.5%), lesiones de menisco y en 5 (26.3%), osteoartritis. 12 sujetos del grupo control (63.15%) fueron población masculina con una mediana de edad de 39.50 años; mientras que en la población femenina fue de 62 años. 13 pacientes con artritis séptica (65%) fueron masculinos con una mediana de edad de 54 años, mientras que en la población femenina fue de 79 años. La diabetes mellitus fue la enfermedad más común encontrada en la historia clínica de los pacientes (50%), seguida de la hipertensión (25%). Se observó una mediana del índice de masa corporal (IMC) de 27 y 24 en pacientes masculinos y femeninos, respectivamente. La evolución clínica de la enfermedad en los pacientes tuvo una mediana de 11.50 días; todos los pacientes tenían una enfermedad monoarticular y las articulaciones afectadas fueron la rodilla en 17 pacientes (85%), el hombro en 2 pacientes (10%) y el codo en 1 paciente (5%), Tabla 1.

Tabla 1. Características de la población estudiada

	Controles	Pacientes
n	19	20
Masculino	12 (63.15%)	13 (65%)
Femenino	7 (36.8%)	7 (35%)
Edad en años (Mediana, IQR)	46 (22-62)	55 (42.75-78)
Edad masculina (Mediana, IQR)	39.50 (21.25-47.50)	54 (36.50-67.50)
Edad femenina (Mediana, IQR)	62 (50-72)	79 (54-84)
IMC (Mediana, IQR)	28 (24-30)	27 (22.31-29)
IMC masculino (Median, IQR)	27 (23.25-31.50)	27 (23.62-29)
IMC femenino (Median, IQR)	29 (27-30)	24 (19-29)
		Ninguno 3 (15%)
		Única enfermedad 5 (25%)
Antecedentes patológicos	Lesión ligamentosa en rodilla, 8 (42.1%) Lesión en meniscos, 6 (31.5%) Osteoartritis, 5 (26.3%)	Múltiples enfermedades 12 (60%) DM 50% HTN 25%
		Otros (OA, AR, Asma, EPOC, neumonía) 25%
Uso de alcohol	15%	15%
Uso de tabaco	5%	15%
Uso de drogas	0%	10%
Evolución clínica en días (Mediana, IQR)	N/A	11.5 (5.5-30)
Articulación afectada	N/A	Rodilla 17 (85%) Hombro 2 (10%) Codo 1 (5%) I- 4 (20%) II-11 (55%) III-1 (5%) IV-4 (20%)
Clasificación Outerbridge	N/A	
Cultivo positivo	0	12 (60%)
Cultivo negativo	19 (100%)	8 (40%)

Determinación del grado de lesión articular en pacientes con artritis séptica.

Los hallazgos de la clasificación de Outerbridge, la cual nos da información acerca del grado de destrucción y del daño osteocondral se encuentra resumida en la tabla 1. En dichos resultados se muestra que más de la mitad de los pacientes (55%) entró en una clasificación grado II. Esto nos indica que los pacientes presentaban una fisura que no supera las 0.5 pulgadas de diámetro ni alcanza el hueso subcondral. La cantidad de pacientes con clasificación grado I y IV fue de 20% en ambas. El grado I se caracteriza por edema y ablandamiento condral, mientras que el grado IV, que es el grado más severo de la clasificación, describe una erosión del cartílago que expone el hueso subcondral. La minoría de los pacientes incluidos (5%) obtuvo una clasificación grado III, el cual indica la presencia de fisura de más de 0.5 pulgadas con un área que llega al hueso subcondral.

Detección e identificación del agente etiológico de la artritis séptica.

Doce de los cultivos de líquido sinovial (60%) del grupo de pacientes con artritis séptica fueron positivos, mientras que en el resto de los cultivos (40%) de este grupo no fue posible el aislamiento e identificación del patógeno (Tabla 1). Se encontró un agente etiológico en 10 casos, lo que representa el 83% de los cultivos positivos, mientras que se detectaron múltiples patógenos en 2 casos (17%). *Staphylococcus aureus* fue el organismo aislado con mayor frecuencia, identificado en más de la mitad de los casos de monoinfección y en todos los casos de coinfección. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* y *Micrococcus* spp. se encontraron igualmente en el 8% de los casos de monoinfección (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis microbiológico.

Mono-infección		Co-infección	
Bacteria	No. de pacientes	Bacteria	No. de pacientes
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 (58.3%)	<i>Staphylococcus aureus</i> / Staphylococci Coagulasa- negativo / <i>Streptococcus</i> <i>mitis</i>	1 (8.3%)
<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA)	1 (8.3%)	<i>Staphylococcus aureus</i> / <i>Citrobacter freundii</i> / <i>Citrobacter diversus</i> / <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (8.3%)
<i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i>	1 (8.3%)		
<i>Micrococcus</i> spp	1 (8.3%)		
TOTAL	10 (83%)	TOTAL	2 (17%)

*Porcentaje basado en el número de cultivos positivos.

Todos los sujetos del grupo de control fueron negativos para cultivos microbiológicos de líquido sinovial, como se ve en la Tabla 1. Con respecto a las comparaciones entre el sistema de cultivo automatizado BACTEC y la técnica de cultivo tradicional, los datos mostraron que el patógeno se aisló e identificó en 35% y 55% de los casos, respectivamente ($P > 0.05$), como se muestra en la Figura 1.

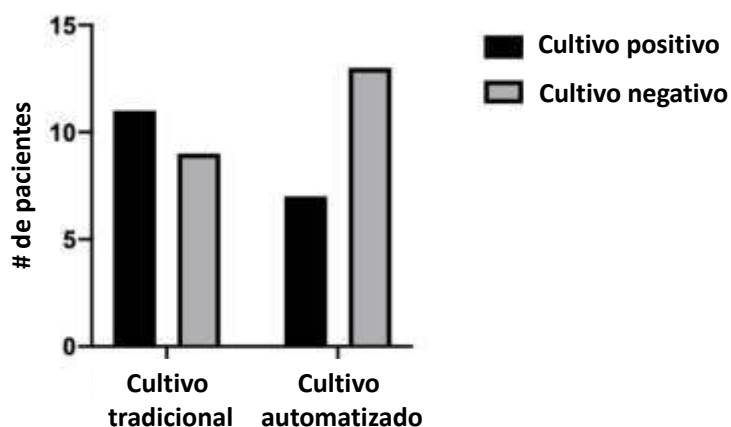


Figura 1. Comparación entre la técnica de cultivo tradicional y el sistema automatizado BACTEC. El cultivo tradicional mostró un 55% (11 casos) de cultivos positivos y un 45% de cultivos negativos. Los resultados de los cultivos automatizados fueron 35% positivos (7 casos) y 65% negativos (13 casos). La prueba de comparación de Fisher mostró un valor de $p > 0.05$.

En el 25% de los casos, el patógeno sólo fue identificado por la técnica de cultivo tradicional, en comparación con el 5% con BACTEC. Ambos sistemas pudieron detectar coinfecciones en los cultivos. La congruencia general entre los cultivos tradicionales y automatizados fue del 70%.

Análisis de subpoblaciones celulares.

Nuestros resultados mostraron que los glóbulos blancos en sangre periférica de los pacientes con artritis séptica eran casi dos veces más altos que los valores del grupo control ($P < 0.0001$). Los pacientes con la enfermedad duplicaron la cantidad de neutrófilos en sangre ($P < 0.0001$) y tenían casi un 22% más de estas células en el recuento diferencial de PMN ($P < 0.0001$). Los pacientes con artritis séptica presentaron casi la mitad del número de linfocitos y del porcentaje de estas células en comparación con los valores de los sujetos controles ($P < 0.05$). La Tabla 3 resume los datos de leucocitos en sangre periférica de los grupos estudiados.

Tabla 3. Valores de WBC en pacientes y sujetos control.

	Controles	Pacientes	Mann Whitney P
WBC	Mediana (25-75% percentiles)	Mediana (25-75% percentiles)	
Neutrófilos K/ μ L	4.42 (3.79-5.42)	9.47 (6.71-16.78)	<0.0001
Neutrófilos %	57.60 (50.40-65)	78.95 (69.63-84.35)	<0.0001
Linfocitos K/ μ L	2.22 (2.01-2.91)	1.69 (1.14-2.45)	0.0188
Linfocitos %	29.60 (25.40-36.60)	12.40 (7.06-18.43)	<0.0001
Monocitos K/ μ L	0.55 (0.44-0.63)	0.73 (0.62-1.36)	0.0026
Monocitos %	7.49 (5.80-8.17)	6.23 (5.07-8.58)	0.3541
Eosinófilos K/ μ L	0.15 (0.12-0.23)	0.05 (0.01-0.13)	0.0036
Eosinófilos %	2.36 (1.48-2.85)	0.27 (0.07-1.38)	<0.0001
Basófilos K/ μ L	0.06 (0.05-0.08)	0.11 (0.06-0.25)	0.0501
Basófilos %	0.01 (0.72-1.14)	0.71 (0.24-0.93)	0.0074
Total, WBC	7.78 (7.17-8.58)	12.40 (10.73-19.18)	<0.0001

WBC, glóbulos blancos. Controles, n = 19, pacientes, n = 20. Se consideró significativo un P <0.05. Los valores se muestran como medianas e IQR. Prueba de Mann Whitney.

Además, los pacientes con un cultivo positivo mostraron casi un 10% más de neutrófilos (P = 0.0496) y casi un 8% menos de linfocitos (P = 0.0473) en comparación con los pacientes con un cultivo negativo. Por otro lado, el porcentaje de eosinófilos y basófilos fue casi un 1% mayor en aquellos pacientes con cultivo de líquido sinovial negativo (P <0.05), Tabla 4.

Tabla 4. Valores de WBC en pacientes con cultivo bacteriológico positivo y negativo.

	Pacientes con cultivo negativo	Pacientes con cultivo positivo	<i>Mann Whitney P</i>
WBC	Mediana (25-75% percentiles)	Median (25-75% percentiles)	
Neutrófilos K/ μ L	9.10 (6.47-9.55)	13.60 (6.71-18.28)	0.2083
Neutrófilos %	73.25 (68.83-79.80)	82.95 (71.28-86.50)	0.0496
Linfocitos K/ μ L	1.81 (1.19-2.71)	1.61 (0.91-2.36)	0.5208
Linfocitos %	16.50 (12.15-21.60)	9.14 (5.70-15.05)	0.0473
Monocitos K/ μ L	0.73 (0.61-0.84)	0.74 (0.62-1.65)	0.5714
Monocitos %	6.32 (5.07-10.14)	6.23 (4.20-8.41)	0.8065
Eosinófilos K/ μ L	0.08 (0.04-0.25)	0.02 (0.004-0.079)	0.0670
Eosinófilos %	1.12 (0.27-2.09)	0.09 (0.02-0.67)	0.0121
Basófilos K/ μ L	0.10 (0.07-0.14)	0.12 (0.04-0.34)	0.7770
Basófilos %	1.02 (0.78-1.13)	0.34 (0.14-0.72)	0.0002
Total, WBC	12.05 (12-12.68)	16.25 (9.90-19.55)	0.3830

WBC, glóbulos blancos. Pacientes con cultivo negativo n = 8; pacientes con cultivo positivo, n = 12. Los valores se muestran como medianas e IQR. Se consideró significativo un $P < 0,05$. Prueba de Mann Whitney.

La PCR y la VSG en sangre mostraron concentraciones más altas en los pacientes con artritis séptica, en comparación con los del grupo control ($P < 0.0001$ y $P = 0.0011$ respectivamente), Figura 2A-B. Además, los pacientes con un cultivo positivo tenían los niveles más altos de PCR ($P < 0.0001$) y VSG ($P = 0.0025$), Figura 2C-D.

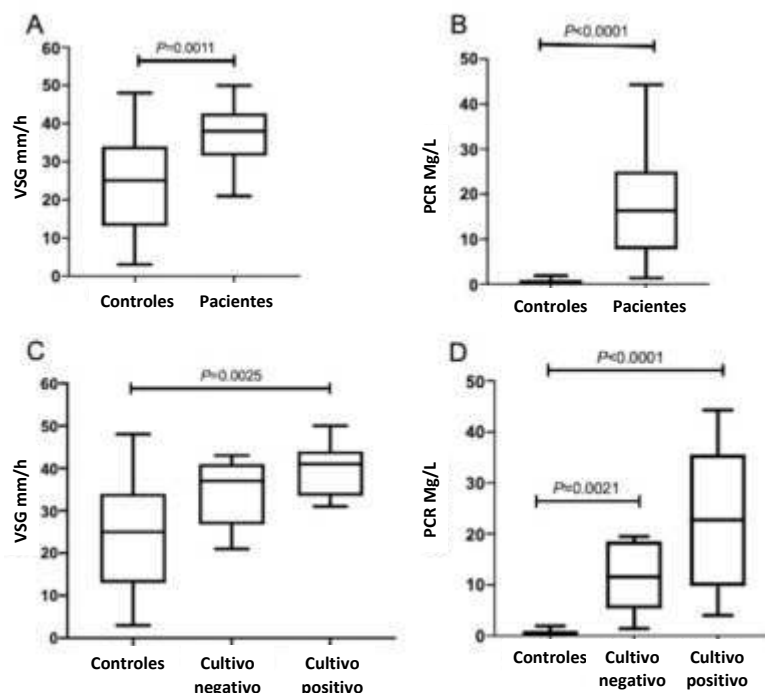


Figura 2. Valores de VSG y PCR en sangre periférica en sujetos control y pacientes con artritis séptica con y sin agente etiológico aislado. (A) Velocidad de sedimentación globular en sujetos control y pacientes. (B) Proteína C reactiva en sujetos control y pacientes con artritis séptica. (C) Velocidad de sedimentación globular en sujetos control y pacientes con y sin agente aislado. (D) Proteína C reactiva en sujetos control y pacientes con y sin agente aislado. Las líneas horizontales superior e inferior de los diagramas de caja indican los percentiles 75 y 25 respectivamente; las líneas dentro del cuadro indican valores medianos. Sujetos de control, n = 19. Pacientes con cultivo negativo, n = 8, pacientes con cultivo positivo, n = 12. Prueba A y B de Mann-Whitney; C y D Kruskal-Wallis; Comparación múltiple de Dunn. $P < 0,05$ se consideró significativo.

Curiosamente, se encontró una correlación positiva entre el IMC de los pacientes con un cultivo positivo y los niveles de VSG ($P = 0.0377$), Figura 3.

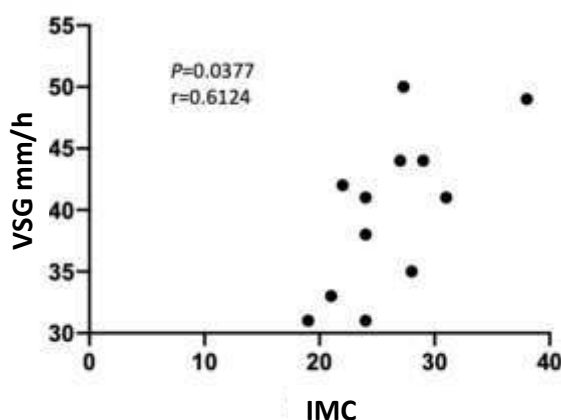


Figura 3. Correlación entre IMC y VSG en pacientes con artritis séptica con cultivo positivo. Correlación de Spearman con un intervalo de confianza del 95% de 0.04008-0.8821.

Se encontró un porcentaje elevado de neutrófilos en el líquido sinovial de los pacientes con artritis séptica ($P < 0,0001$). Este valor fue un 75% mayor en los pacientes, en comparación con el grupo de control que no tenía neutrófilos detectables, Tabla 5.

Tabla 5. Porcentaje de recuento celular en líquido sinovial de pacientes y controles

	Controles	Pacientes	Mann Whitney <i>P</i>
Conteo celular %	Median (25-75% percentiles)	Median (25-75% percentiles)	
Neutrófilos	0 (0-0)	75 (35-82)	<i><0.0001</i>
Eosinófilos	0 \pm 0	0 (0-1)	<i>0.0080</i>
Basófilos	0 \pm 0	0 (0-1)	<i>0.0031</i>
Monocitos	50 (10-60)	11 (7-36)	<i>0.0069</i>
Linfocitos	30 (10-50)	13 (8-21)	<i>0.2030</i>

Controles n = 19, pacientes n = 20. Los valores se muestran como medianas e IQR. Se consideró significativo un $P < 0,05$. Prueba de Mann Whitney.

Sin embargo, independientemente del hecho de que la diferencia fue evidente entre los sujetos problema, sin agente microbiológico aislado, y el grupo de control ($P = 0.0008$), no se observaron diferencias entre los pacientes con y sin cultivos positivos como se ve en la Figura 4. Por el contrario, los monocitos fueron más abundantes y mostraron una diferencia importante ($P = 0.0069$) en el grupo de control, en comparación con los pacientes, Tabla 3.

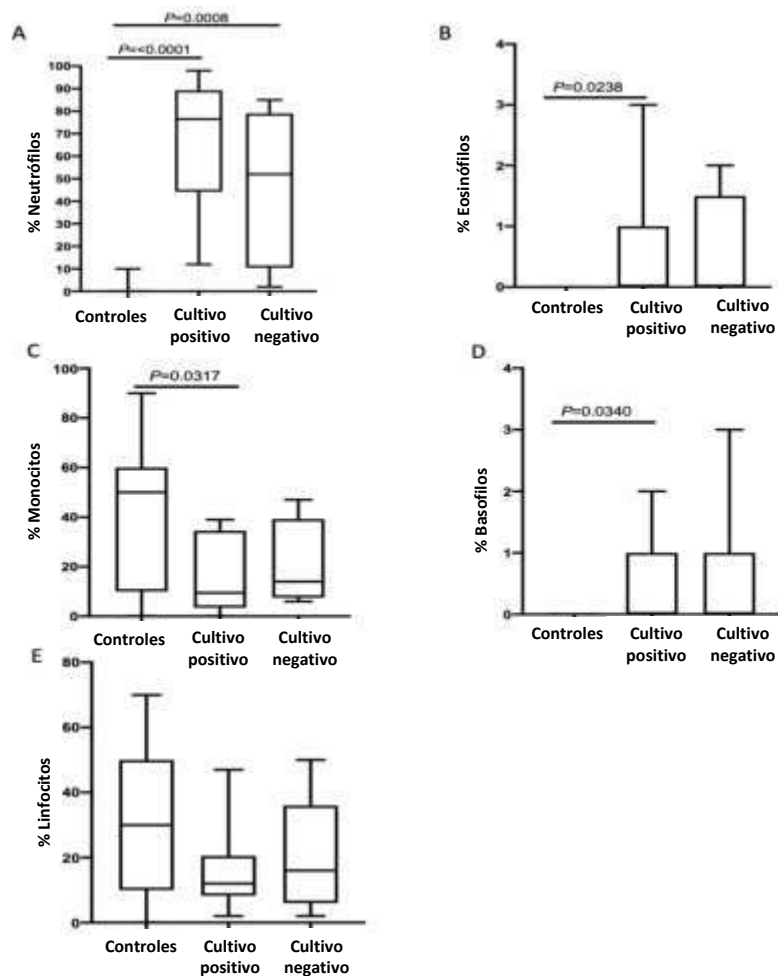


Figura 4. Recuento celular con diferencial en líquido sinovial de controles y pacientes con y sin agente etiológico aislado. (A) Neutrófilos, (B) Eosinófilos, (C) Monocitos, (D) Basófilos y (E) Linfocitos. Las líneas horizontales superior e inferior de los diagramas de caja indican los percentiles 75 y 25 respectivamente; las líneas dentro del cuadro indican valores medianos. Sujetos de control n = 19. Pacientes con cultivo negativo, n = 8; Pacientes con cultivo positivo n = 12. Se consideró significativo un $P < 0,05$. Kruskal-Wallis - Comparación múltiple de Dunn.

Evaluación de la calidad de vida.

Los pacientes con artritis séptica presentaron diferencias en el puntaje SF-36 al compararlos con el grupo control y tuvieron una caída (deterioro) de 25 puntos en la puntuación de la función física; 57, en la limitación del rol debido a la salud física; 28, en el dolor corporal; 20, en el funcionamiento social; 22, en la salud mental general; 22, en la limitación del rol debido a problemas emocionales; 2, en energía vital o fatiga y 17, en percepción de salud general, todos con diferencias estadísticamente significativas (P

<0.05), en comparación con el grupo control (Figura 5A). Por otro lado, la evaluación del SF-36 un año después de la inclusión presentó un aumento (mejoría) de 38 puntos en la puntuación de funcionamiento físico ($P = 0.0036$); 25, en dolor corporal ($P = 0.0356$) y 36, en salud en comparación con la percepción del año pasado ($P = 0.0018$). Además, se observó un deterioro de 40 puntos en la limitación del rol debido a problemas emocionales ($P = 0.0237$) un año después de la inclusión al protocolo como se ve en la Figura 5B.

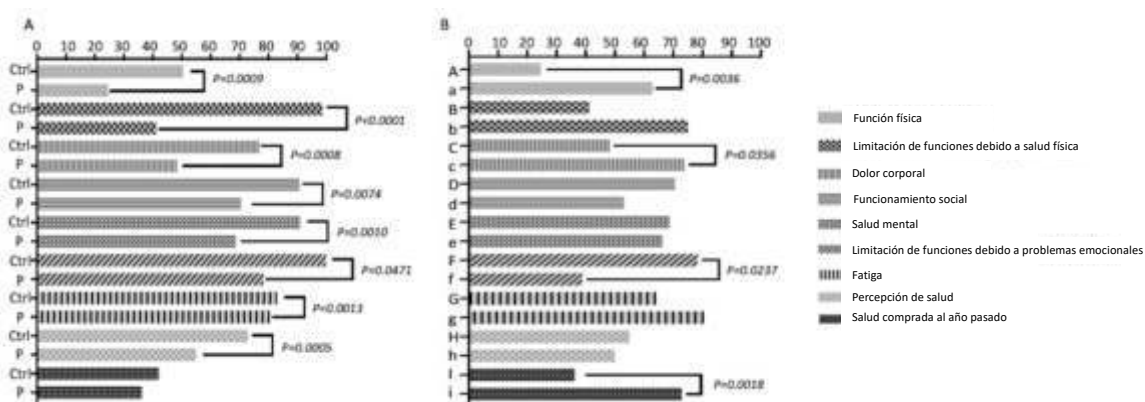


Figura 5. Valoración de la encuesta de salud SF-36 en la población estudiada. A) Puntuación de la encuesta de salud SF-36 entre pacientes con artritis séptica y sujetos de control. (Ctrl) controles, (P) Pacientes. Los datos mostrados representan la mediana de cada puntuación (pacientes $n = 20$, sujetos controles $n = 19$). Prueba de Mann Whitney. (B) Comparación de la encuesta de salud SF-36 de pacientes con artritis séptica en el día del reclutamiento y un año después. Las letras mayúsculas indican la puntuación SF-36 en el momento del reclutamiento; una letra minúscula indica la puntuación un año después de la inclusión. Los datos mostrados representan la mediana de cada puntuación ($n = 20$ pacientes en el momento del reclutamiento, $n = 12$ pacientes un año después de la inclusión). La prueba de Mann Whitney.

Evaluación del perfil sistémico y local de citocinas

Determinamos el perfil de citocinas sistémicas en pacientes con artritis séptica y el grupo control no infectado en el primer conjunto de experimentos. Las citocinas medidas en suero mostraron un perfil proinflamatorio en las pacientes comparadas con el grupo control. Este perfil fue impulsado por IL-1 β , IL-6 e IL-8 (Tabla 6). Las concentraciones de IL-1 β fueron dos veces superiores a las de los controles ($P = 0.0098$), similar a IL-8, que también presentó concentraciones dos veces superiores ($P = 0.0184$). Por otro lado, la citocina más abundante fue la IL-6, cuyas concentraciones fueron casi 28 veces superiores

a las de los controles ($P < 0.0001$). No se encontraron diferencias significativas en el resto de citocinas sistémicas medidas.

Tabla 6. Niveles de citocinas en suero de pacientes y sujetos controles.

Citocina (pg/mL)	Pacientes (n=18) Mediana (25-75 percentile)	Controles (n=19) Mediana (25-75 percentile)	Mann Whitney <i>P</i>
IL-1 β	2.290 (1.58-3.87)	1.080 (0.2400-1.080)	<i>0.0098</i>
GM-CSF	22.11 (2.070-32.72)	13.60 (5.72-25.21)	0.7143
IL-6	29.38 (12.04-78.23)	1.875 (0.8675-2.755)	<i><0.0001</i>
IL-10	0.4400 (0.2400-2.745)	0.3400 (0.2150-0.6900)	0.6508
IL-17A	2.910 (1.095-7.715)	2.290 (1.660-4.750)	0.7512
IL-8	11.76 (7.583-26.22)	5.510 (3.020-14.95)	<i>0.0184</i>
TNF- α	6.190 (3.590-13.64)	2.725 (2.180-9.218)	0.1842

Localmente el líquido sinovial de los pacientes con artritis séptica mostró niveles aumentados estadísticamente significativos de todas las citocinas medidas en comparación con el grupo control (Tabla 7). La citocina más abundante, similar a los sueros, fue IL-6, que fue 525 veces mayor que los controles ($P < 0.0001$). La IL-8 presentó una concentración 83 veces mayor que los sujetos no infectados ($P < 0.0001$), seguida de la citocina antiinflamatoria IL-10, cuyos niveles fueron 73 veces más altos en los pacientes ($P < 0.0001$). IL-1 β tuvo una concentración 71 veces mayor en los pacientes que en los controles ($P < 0.0001$), IL-17A fue 47 veces más abundante en los pacientes, mientras que

TNF- α y GM-CSF fueron 11 ($P = 0.0017$) y 3 ($P = 0.0275$) veces mayor que el grupo de sujetos controles, respectivamente.

Tabla 7. Niveles de citocinas en líquido sinovial de pacientes y sujetos controles.

Citocina	Pacientes (n=20)	Controles(n=19)	Mann Whitney <i>P</i>
(pg/mL)	Mediana (25-75 percentile)	Mediana (25-75 percentile)	
IL-1 β	71.37 (26.79-833.4)	ND*	<0.0001
GM-CSF	14.61 (6.38-25.56)	4.595 (2.58-10.34)	0.0275
IL-6	16707 (8567-19439)	31.81 (5.45-127.8)	<0.0001
IL-10	46.90 (5.155-96.55)	0.6400 (0.49-1.05)	<0.0001
IL-17A	107.7 (11.97-268.5)	2.290 (1.010-3.53)	<0.0001
IL-8	3070 (1513-4620)	36.86 (14.03-43.37)	<0.0001
TNF- α	42.27 (20.09-60.07)	3.800 (1.75-21.21)	0.0017

ND* no detectable

En base a estos resultados, evaluamos si la citocina más abundante, IL-6, estaba asociada con los parámetros demográficos y clínicos de los pacientes. Las concentraciones sistémicas de IL-6 se asociaron con una puntuación WOMAC más alta un año después del día de reclutamiento inicial ($r = 0.6514$; $P = 0.0352$), lo que indica un índice de osteoartritis más alto (Figura 6).

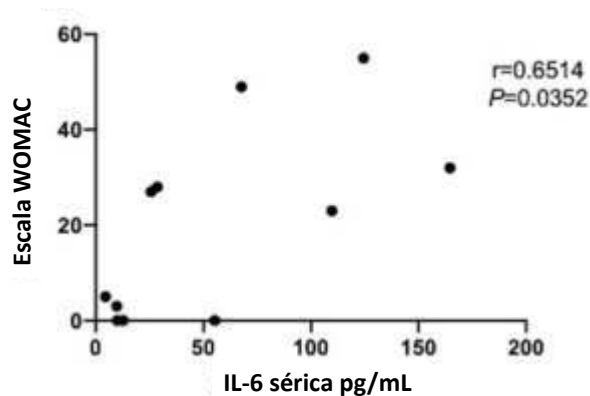


Figura 6. Correlación de la puntuación WOMAC con IL-6 sérica un año después del día de reclutamiento de los pacientes (n = 12). Correlación de Spearman.

La edad de los pacientes se correlacionó positivamente con los niveles de IL-6 en suero ($r = 0.4752$; $P = 0.0463$). Este resultado fue aún más evidente en pacientes mayores de 50 años, (Figura 7A). Las concentraciones locales de IL-6 se correlacionaron positivamente con el porcentaje de neutrófilos en líquido sinovial en los pacientes ($r = 0.6034$; $P = 0.0062$), como se observa en la figura 7B. Además, las concentraciones locales de IL-17A se correlacionaron positivamente con el tiempo de evolución clínica de la enfermedad ($r = 0.5347$; $P = 0.0151$), mostrando concentraciones más altas durante los primeros 30 días del establecimiento de la infección (Figura 7C).

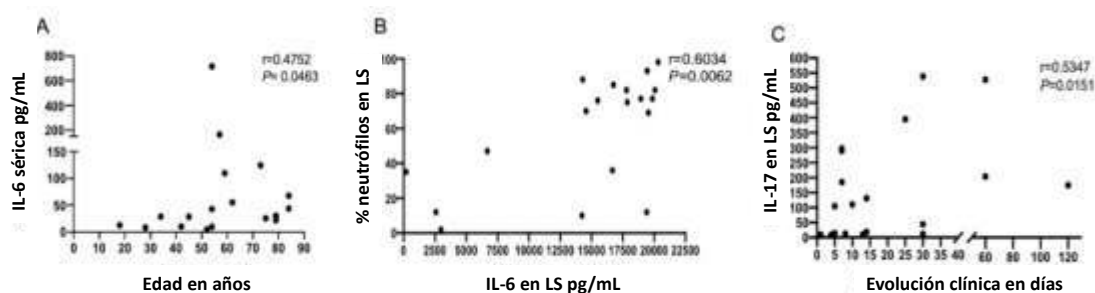


Figura 7. Niveles de citocinas asociadas con edad, % de neutrófilos y evolución clínica. Los niveles séricos de IL-6 se correlacionaron con la edad de los pacientes reclutados (n = 18) (A). Niveles de IL-6 en líquido sinovial y % de neutrófilos de los pacientes (n = 20) (B). Los niveles de IL-17A en el líquido sinovial se correlacionaron con la evolución clínica de los pacientes expresada en días (n = 20) (C). Correlación de Spearman, (LS) Líquido sinovial.

La IL-8 sérica se correlacionó positivamente con la limitación del papel del SF-36 debido a la puntuación de salud física ($r = 0.5259$; $P = 0.0250$) mientras que la IL-10 del líquido sinovial se correlacionó negativamente con la puntuación de funcionamiento social del SF-36 ($r = -0.4877$; $P = 0.0292$), éstos en el día del reclutamiento (Figura 8A-B).

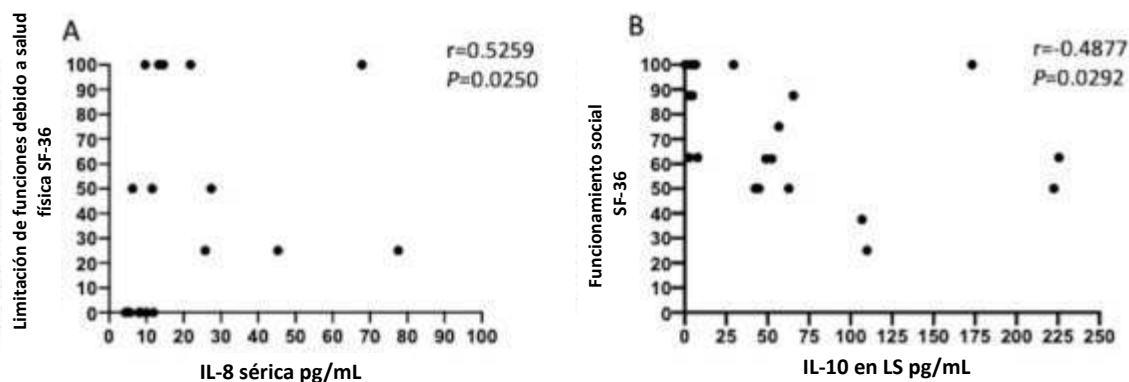


Figura 8. Correlación de los niveles de citocinas locales y sistémicas con la encuesta de salud SF-36 en el día del reclutamiento de los pacientes. Correlación de la puntuación de limitación de funciones debido a salud física SF-36 con IL-8 sérica (A) y correlación de la puntuación de funcionamiento social SF-36 con IL-10 en líquido sinovial (B). Grupos de líquido sinovial ($n = 20$), suero ($n = 18$). Correlación de Spearman. (LS) Líquido sinovial.

Además, la correlación de citocinas, realizada un año después de la inclusión del paciente en el protocolo, mostró que los niveles séricos de IL-6 se correlacionaron negativamente con la puntuación de salud mental general del SF-36 ($r = -0.7378$; $P = 0.0184$), que se muestra en la Figura 9A. Por otro lado, el TNF- α del líquido sinovial fue la principal citocina local que un año después del seguimiento de los pacientes se correlacionó negativamente con la puntuación de limitación de rol SF-36 ($r = -0.6422$; $P = 0.0318$); la del dolor corporal ($r = -0.6320$; $P = 0.0315$) y la de salud mental general ($r = -0.6708$; $P = 0.0197$) como se ve en la Figura 9B-D.

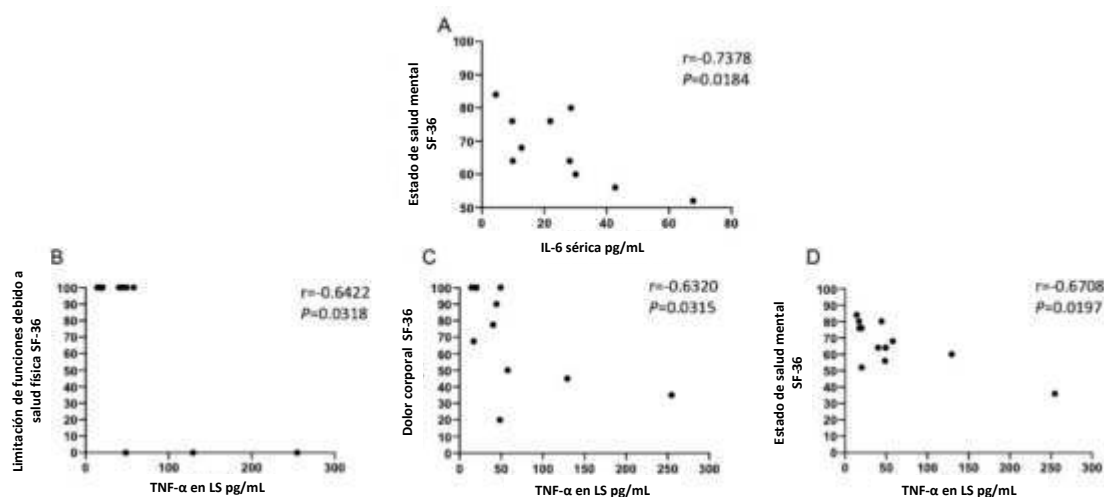


Figura 9. Correlación de los niveles de citocinas locales y sistémicas con la encuesta de salud SF-36 un año después del reclutamiento. Correlación de la IL-6 sérica con la puntuación de salud mental general SF-36 (A). Correlación de los niveles de TNF- α en líquido sinovial con la puntuación de limitación de funciones del SF-36 (B), la puntuación de dolor corporal SF-36 (C) y la puntuación de salud mental general SF-36 (D). Grupos de líquido sinovial (n = 12), suero (n = 12). Correlación de Spearman. (LS) Líquido sinovial.

Evaluación de la alarmina HMGB1 sistémica y local.

Para ampliar los resultados de las citocinas, evaluamos las concentraciones de la alarmina HMGB1 a nivel local y sistémica como un marcador de daño. La HMGB1 en sueros de los sujetos controles fue mayor que en los pacientes ($P = 0.0112$), como se muestra en la figura 10A.

Por otro lado, los pacientes tenían casi 2 veces más concentraciones locales de HMGB1 en comparación con el grupo control ($P < 0.0001$), como se observa en la figura 10B.

Además, los niveles más altos de alarmina se encontraron en una clasificación de Outerbridge más severa ($P = 0.0042$) como se aprecia en la figura 10C, en comparación con el grupo control no infectado.

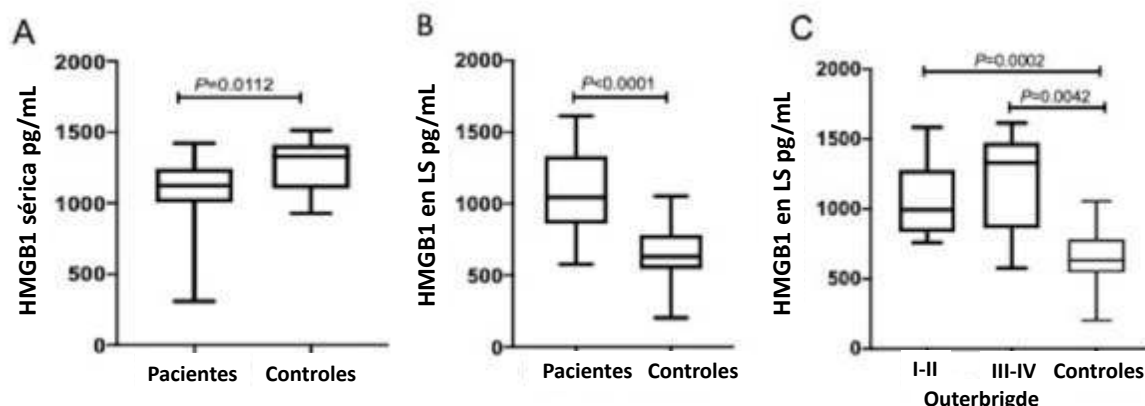


Figura 10. Concentraciones de HMGB1 en la población estudiada. Niveles séricos de HMGB1 en pacientes y grupo control (A). Niveles de HMGB1 en líquido sinovial en pacientes y sujetos control (B). Concentración de HMGB1 en líquido sinovial y clasificación de Outerbridge en pacientes con artritis séptica (C). Pacientes (n = 20), controles (n = 19), grupos de Outerbridge I-II (n = 15), Outerbridge III-IV (n = 5). Las líneas horizontales superior e inferior de los diagramas de caja indican los percentiles 75 y 25, respectivamente; las líneas dentro del cuadro indican valores medianos. Kruskal Wallis: Comparación múltiple de Dunn y prueba de Mann Whitney.

Adicionalmente, los niveles séricos de HMGB1 se correlacionaron negativamente con la puntuación de osteoartritis WOMAC un año después del reclutamiento inicial ($r = -0.6549$; $P = 0.0248$), como se muestra en la figura 11.

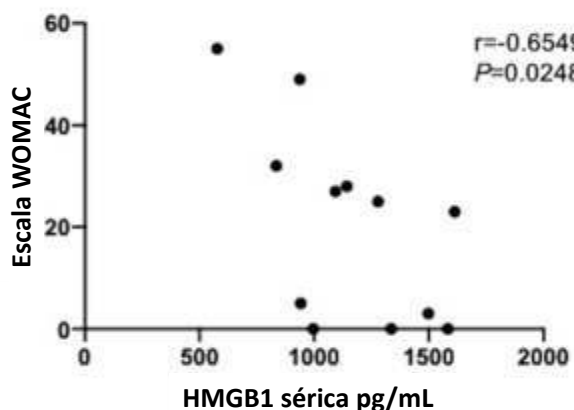


Figura 11. Correlación de la puntuación WOMAC con las concentraciones de HMGB1 séricas un año después del día de reclutamiento (n = 12). Correlación de Spearman.

Análisis bioquímico

Se evaluó si la respuesta inflamatoria local se asoció con las concentraciones de glucosa en líquido sinovial. Este parámetro bioquímico se correlacionó negativamente con las concentraciones locales de IL-8 ($r = -0.4974$; $P = 0.0257$), TNF- α ($r = -0.5180$; $P = 0.0193$) e IL-1 β ($r = -0.4975$; $P = 0.0442$) como se muestra en la figura 12A-C.

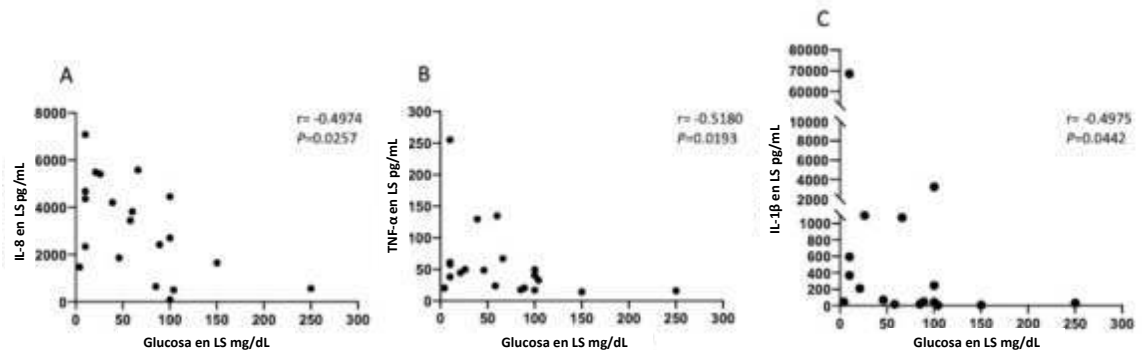


Figura 12. Correlación de los niveles de citocinas locales con la concentración de glucosa en líquido sinovial. Correlación de la concentración de glucosa local con IL-8 (A), TNF- α (B) e IL-1 β (C) en líquido sinovial. (n = 20). Correlación de Spearman. (LS) Líquido sinovial.

Esta asociación se relacionó con el daño articular, ya que los niveles de glucosa local más bajos se observaron en pacientes con una clasificación de Outerbridge más alta, como se muestra en la figura 13. No se encontraron correlaciones significativas con las otras concentraciones de glucosa y citocinas medidas.

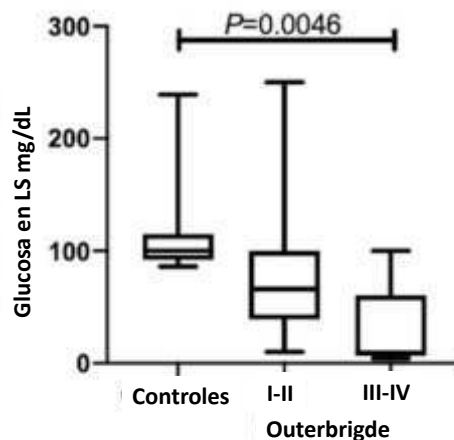


Figura 13. Niveles de glucosa en líquido sinovial y clasificación de Outerbridge. Grupos de controles (n = 19), Outerbridge I-II (n = 15), Outerbridge III-IV (n = 5). Las líneas horizontales superior e inferior de los diagramas de caja indican los percentiles 75 y 25, respectivamente; las líneas dentro del cuadro indican valores medianos. Kruskal Wallis - Comparación múltiple de Dunn. (LS) Líquido sinovial.

Los pacientes con artritis séptica mostraron casi la mitad de los niveles de glucosa en líquido sinovial en comparación con el grupo control ($P = 0.0018$), como se muestra en la figura 14A. Los pacientes con cultivo positivo tenían la concentración de glucosa local más baja ($P = 0.0004$), como se observa en la figura 14B. Se compararon los niveles de glucosa en sangre y líquido sinovial de los mismos pacientes y sujetos controles, y nuestros datos mostraron que los sujetos controles y los pacientes con un cultivo negativo no tenían diferencias significativas en los niveles de glucosa ($P = 0.1428$ y $P = 0.2050$, respectivamente), como se demuestra en la figura 14C-D. Por otro lado, esta comparación mostró una diferencia estadísticamente significativa con casi cuatro veces menos concentración de glucosa en líquido sinovial en aquellos pacientes con un cultivo positivo ($P < 0.0001$), como se observa en la figura 14E.

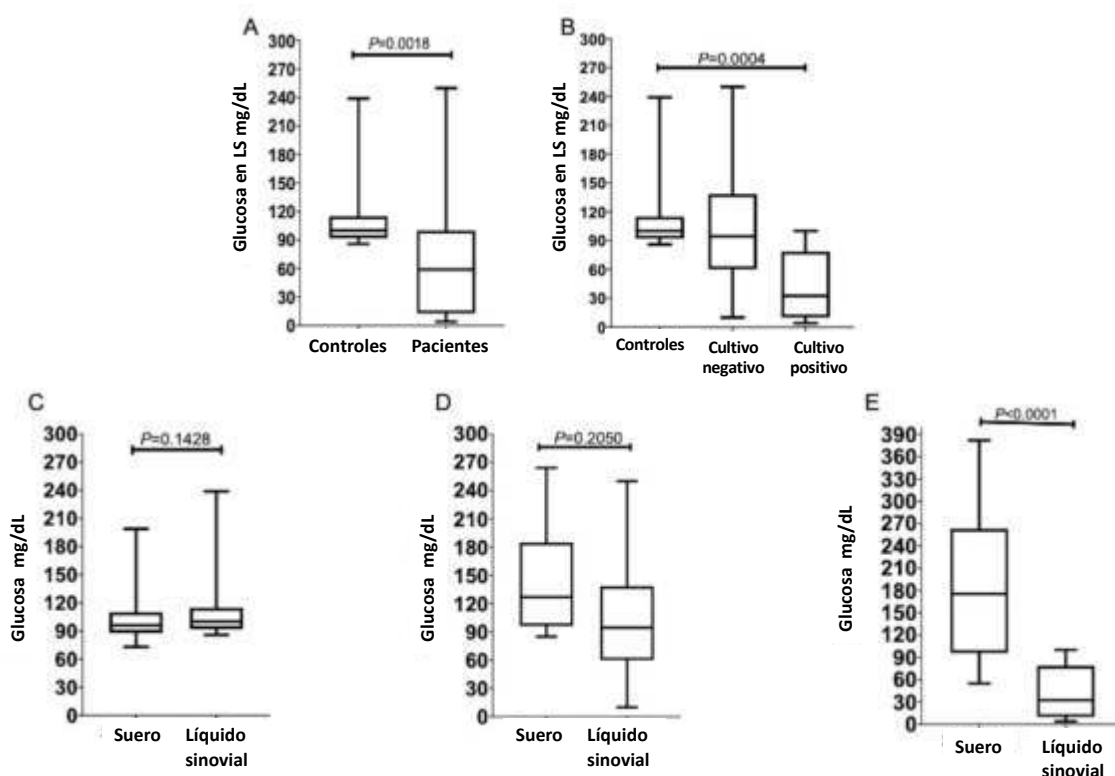


Figura 14. Comparaciones de concentraciones de glucosa en líquido sinovial y suero de controles y pacientes. (A) Sujetos de control y pacientes con artritis séptica, (B) Sujetos de control y pacientes con un cultivo negativo y positivo. Comparaciones de niveles de glucosa entre suero y líquido sinovial en (C) sujetos control, (D) pacientes con cultivo negativo; y (E) pacientes con cultivo positivo. Prueba de Mann Whitney y Kruskal Wallis - Comparación múltiple de Dunn; $P < 0,05$ se consideró significativo. Las líneas horizontales superior e inferior de los diagramas de caja indican los percentiles 75 y 25 respectivamente; las líneas dentro del cuadro indican valores medianos. Sujetos de control, $n = 19$. Pacientes con cultivo negativo, $n = 8$; Pacientes con cultivo positivo, $n = 12$. (LS) líquido sinovial.

Los pacientes con artritis séptica mostraron valores de esterasa leucocitaria (LE) más elevados ($P < 0.0001$) en comparación con el grupo control, en el que no se detectó este parámetro (Figura 15A). Los pacientes con cultivo positivo mostraron los valores de LE más altos ($P < 0.0001$), como se observa en la figura 15B. Sin embargo, los pacientes con cultivo negativo también presentaron una concentración de LE más alta que el grupo control ($P = 0.0007$), como se aprecia en la figura 15B. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de LE entre los grupos de cultivo positivo y negativo. En cuanto al pH, los pacientes presentaron un nivel más ácido en líquido sinovial que el grupo control ($P < 0.0001$), como se demuestra en la figura 15C. Este fenómeno se observó tanto en pacientes con cultivo de líquido sinovial positivo como negativo (Figura 15D).

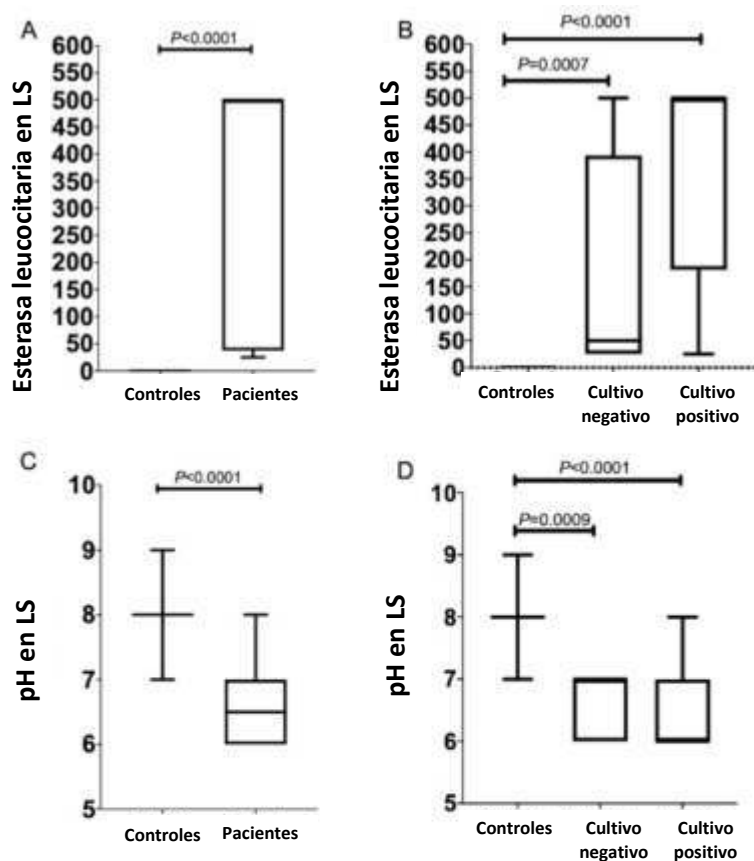


Figura 15. Comparación entre los niveles de esterasa leucocitaria y pH en líquido sinovial. Niveles de LE en líquido sinovial de (A) sujetos control y pacientes; (B) sujetos de control y pacientes con y sin cultivo positivo; Niveles de pH en líquido sinovial de (C) sujetos de control y pacientes ; y (D) sujetos control y pacientes con y sin cultivo positivo. Prueba de Mann Whitney y Kruskal Wallis - Comparación múltiple de Dunn; $P < 0,05$ se consideró significativo. Las líneas horizontales superior e inferior de los diagramas de caja indican los percentiles 75 y 25 respectivamente; las líneas dentro del cuadro indican valores medianos. Sujetos de control, $n = 19$; Pacientes con cultivo negativo, $n = 8$; y pacientes con cultivo positivo, $n = 12$.

Las concentraciones de glucosa en líquido sinovial mostraron un área bajo la curva (AUC) de 0.91 con una fuerte significación estadística ($P = 0.0001$). El mejor valor de corte, <85.5 mg / ml mostró una sensibilidad del 83.33% (IC del 95%: 55.20% -97.04%) con un 100% (IC del 95%: 83.18% -100%) de especificidad. El AUC de los niveles séricos de PCR fue 1 ($P < 0.0001$) en su mejor valor de corte, > 2.95 mg / L, en cuyo nivel de sensibilidad y especificidad fueron 100% (IC 95%: 75.75% -100%) y 100% (95% IC: 83.18% -100%), respectivamente. A pesar de esto, la glucosa en líquido sinovial aún podría ser más accesible debido a sus resultados fáciles, rápidos y confiables. Los niveles de pH en líquido sinovial también mostraron una fuerte significación estadística ($P < 0.001$) con un AUC de 0.92 y una sensibilidad de 91.67 (IC del 95%: 64.61% -99.57%) y una especificidad de 84.21 (IC del 95%: 62.43% -94.48%) en su mejor valor de corte, <7.5 . La VSG presentó los resultados más débiles con un AUC de 0.84 ($P = 0.0016$), una sensibilidad del 100% (IC del 95%: 75.75% -100%) y una especificidad del 73.68% (IC del 95%: 51.21% -88.19%) en su mejor valor de corte de $> 30,50$ mm / h ; sin embargo, este sigue siendo un parámetro estadísticamente significativo a considerar (Figura 16).

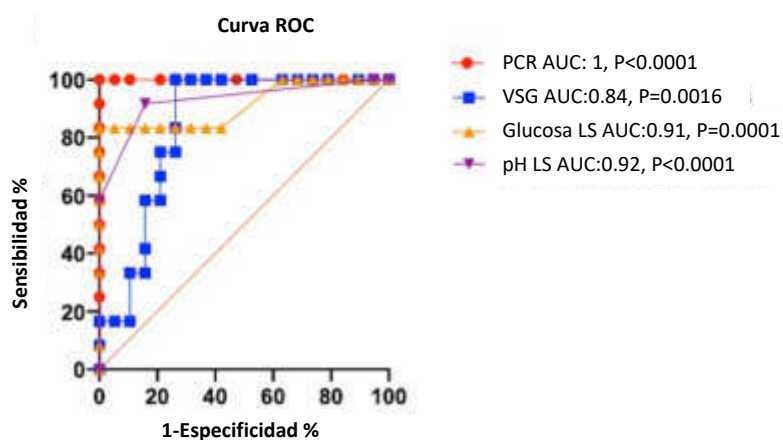


Figura 16. Análisis de la curva ROC entre los niveles PCR ,VSG, glucosa y pH en pacientes con cultivo positivo. Valores de PCR sérica, VSG sérica, glucosa en líquido sinovial y pH en líquido sinovial. (LS) líquido sinovial.

DISCUSIÓN

En este estudio, examinamos los perfiles locales y sistémicos de citocinas en pacientes con artritis séptica y analizamos su asociación con otras variables clínicas y bioquímicas y su correlación con la gravedad y el pronóstico de la enfermedad. La respuesta inmune local en la articulación mostró que los pacientes tenían un perfil proinflamatorio aumentado con regulación local por IL-10. En el líquido sinovial IL-6 fue la citocina más abundante, esto en concordancia con estudios previos, en los que se midió localmente junto con IL-1 β , TNF- α (57) y GMC-SF (58). Además de la IL-6, las citocinas locales más abundantes en nuestros pacientes fueron IL-17A, IL-1 β y TNF- α , que se han asociado con la actividad de resorción ósea junto con RANKL (19, 20).

Curiosamente, se ha demostrado que HMGB1 regula la osteoclastogénesis inducida por RANKL a través de RAGE (59). Esto probablemente podría explicar por qué nuestros pacientes tenían niveles más altos de HMGB1 a nivel local, en comparación con el grupo control y por qué era más abundante en pacientes con daño osteocondral más grave. Sin embargo, es importante mencionar que no medimos el RANKL, lo cual habría sido interesante, pero estaba fuera del alcance del proyecto. Además, se ha informado que HMGB1 es un DAMP (patrón molecular asociado al peligro) o "alarmina", que puede amplificar el proceso inflamatorio (60). La presencia de IL-6 e IL-1 β hace que las células T activadas se polaricen a células Th17, produciendo principalmente IL-17 (61). Esta citocina ha demostrado en un modelo animal que tiene 2 picos de prevalencia durante la enfermedad (17); el primero, durante los primeros 3 días posteriores a la infección (DPI). Esta citocina disminuyó durante 9 DPI pero aumentó de nuevo a los 15 DPI. Aunque ningún estudio en humanos ha evaluado esta comparación, nuestros datos mostraron un aumento de los niveles de IL-17A durante los primeros 30 días del establecimiento de la enfermedad. Después de este tiempo, se puede observar una tendencia a concentraciones más bajas de IL-17A; sin embargo, dado que no medimos estos niveles durante los días siguientes éste seguirá siendo un tema de discusión en el que se podría evaluar una fase de artritis destructiva crónica. Los neutrófilos representan alrededor del 90% de las células

en líquido sinovial durante la artritis séptica (25), y se sabe que son capaces de producir una amplia gama de citocinas proinflamatorias (62). Entre ellas, IL-6, la cual se correlacionó positivamente con el porcentaje de neutrófilos en líquido sinovial en nuestros pacientes.

Las citocinas proinflamatorias IL-8, IL-1 β y TNF- α a nivel local se correlacionaron negativamente con las concentraciones locales de glucosa en nuestros pacientes. Este hallazgo podría traducirse en un metabolismo de la glucosa local. Algunas bacterias, como *Staphylococcus aureus*, han demostrado tener transportadores de carbohidratos que permiten un consumo óptimo de azúcar en el huésped (32). Esto ocasiona una caída en las concentraciones locales de glucosa, lo que podría guiar a los médicos a sospechar artritis séptica como se demostró en un estudio clínico (27).

Además, en nuestro estudio, las concentraciones locales de glucosa fueron menores en aquellos pacientes con mayor daño osteocondral. Todo esto probablemente también podría explicarse porque durante un proceso inflamatorio-infeccioso, hay un mayor consumo de nutrientes, como la glucosa, que son demandados por las células inmunes para su metabolismo (30). Sin embargo, es convincente mencionar que los granulocitos, especialmente los neutrófilos, contienen grandes depósitos de glucógeno que pueden usarse como combustible intracelular cuando los niveles de glucosa extracelular son limitados (63). Esta glucosa intracelular podría dar a las células inmunes la energía necesaria para mantener una respuesta inmunitaria mediada por citocinas locales, incluso cuando los nutrientes como la glucosa son escasos.

Dado que la artritis séptica es una infección articular local, se han realizado pocas investigaciones sobre mediadores inmunes sistémicos como las citocinas y sus asociaciones con otros parámetros clínicos y de laboratorio. Las variables medidas en sangre son principalmente PCR, VSG y recuento de WBC (64). Sin embargo, en nuestro estudio, demostramos que, a diferencia de las citocinas locales que aumentaron significativamente en comparación con el grupo de control, el perfil de citocinas en suero solo mostró una firma proinflamatoria impulsada por IL-6, IL-8 e IL-1 β en los pacientes.

Al igual que a nivel local, el suero de los pacientes presentó las concentraciones de IL-6 más altas. Esta citocina se ha estudiado previamente para discriminar entre artritis séptica e inflamatoria (48). Sin embargo, la utilidad de este parámetro ha demostrado ser precisa durante las infecciones articulares periprotésicas (PJI), donde tiene un potencial diagnóstico debido a su alta especificidad (65).

La IL-6 sérica mostró una correlación positiva con la edad de los pacientes con artritis séptica; esto fue más evidente en pacientes mayores de cincuenta años como se muestra en nuestros resultados. Se ha revisado que el envejecimiento se asocia con un aumento de citocinas proinflamatorias sistémicas como IL-6, IL-1 y TNF- α , un fenómeno conocido como "envejecimiento inflamatorio" o "inflamm-aging" (66). Estos niveles elevados de citocinas sistémicas se han asociado con un mayor riesgo de desarrollar osteoporosis (67, 68), fracturas (69) y una elevada morbilidad y mortalidad (66). Nuestros datos apoyan estos hallazgos, en los que se encontró una correlación positiva entre la IL-6 sérica y el índice de osteoartritis realizado un año después del diagnóstico de la enfermedad.

En nuestro estudio, la alarmina HMGB1 sérica mostró una correlación negativa con el índice de artrosis un año después del reclutamiento del paciente. Se han atribuido propiedades de curación y regeneración de fracturas a HMGB1 a través de CXCL12 y CXCR4, en un modelo en el que se encontraron niveles plasmáticos elevados de esta alarmina, en humanos y ratones, después de una lesión por fractura (70). Sin embargo, su valor predictivo de lesiones osteocondrales y su vía de regeneración tisular, que todavía es un mecanismo desconocido, es un tema de investigación adicional. Datos preliminares han demostrado que HMGB1 sérica presenta menores concentraciones en individuos más jóvenes e individuos sanos (71). Este hallazgo está de acuerdo con nuestros datos en los que los sujetos controles, que eran relativamente sanos y más jóvenes, tenían HMGB1 sérico más alto que los pacientes con artritis séptica. Este fenómeno necesita más estudios para validar una posible explicación; sin embargo, también se han demostrado asociaciones entre HMGB1 y cathepsina B (71) ampliando las líneas de investigación.

La artritis séptica presenta un elevado número de complicaciones, incluidas las afecciones psicológicas, como se muestra en un estudio previo, en donde casi el 80% de los pacientes afectados sintieron que la infección tenía consecuencias importantes en sus vidas (72). A pesar de esto, se ha realizado poca investigación sobre cómo los pacientes perciben su salud y cómo la enfermedad y la respuesta inmune podrían afectar esta percepción. Como se muestra en nuestros resultados, los pacientes con artritis séptica presentaron puntuaciones de SF-36 disminuidas en casi todas las variables medidas, en comparación con el grupo control en el día del reclutamiento. Este hallazgo puede ser comprensible por la aparición aguda de la enfermedad acompañada de dolor y pérdida de función articular en estos pacientes. Sin embargo, un año después del establecimiento de la enfermedad, los puntajes de percepción aumentaron, excepto por la limitación del rol debido a problemas emocionales, que también podrían verse afectados debido a la pandemia Sars-CoV-2 (73). La IL-10 ha sido nombrada como un marcador clave de depresión (74) lo que probablemente podría afectar la interacción de los individuos con su entorno. Sin embargo, nuestros datos mostraron que esta citocina se correlacionó negativamente con la puntuación de funcionamiento social en el momento del reclutamiento. Una explicación probable de esto es que la IL-10 se midió localmente en la articulación y no representa los valores sistémicos que podrían constituir un vínculo con la depresión, como muestra la literatura previa. Por otro lado, la IL-8 sérica, que se ha asociado con fiebre en un mecanismo independiente de prostaglandinas (75), correlacionó positivamente con la limitación del rol debido a la puntuación de salud física en el día de reclutamiento.

Como se revisó anteriormente, el TNF- α se ha asociado con el deterioro cognitivo, el envejecimiento vascular, el metabolismo óseo y muscular e incluso el estado nutricional (66). Algunas de estas asociaciones se pueden ver en nuestros resultados. Los pacientes con niveles más bajos de TNF- α local presentaron una mejor puntuación en la limitación del rol debido a la salud física, menor dolor corporal y mejores puntuaciones de salud mental general, un año después del diagnóstico.

Los pacientes con IL-6 sérica más baja mostraron una mejor puntuación de salud mental general, un año después de la inclusión al protocolo. Las asociaciones entre esta citocina

y los trastornos de salud mental se han evaluado antes (76, 77). La inflamación sistémica debida a esta citocina en el suero podría tener un papel en los trastornos de salud mental. La importancia de las percepciones de salud de los pacientes se ha demostrado anteriormente en donde se ha descrito que una percepción positiva se asocian con un mejor resultado (78), que impacta claramente en el desarrollo socio-personal después de la enfermedad (79, 80) e incluso afectando la mortalidad (81).

Es bien sabido que en aproximadamente la mitad de los casos es posible que no se identifique el agente etiológico de la infección (82); como se demuestra en nuestros resultados, en donde el 40% de los pacientes, la detección y el aislamiento de las bacterias no fueron posibles. Debemos considerar que un cultivo negativo no siempre significa que el diagnóstico sea incorrecto. Puede haber varios factores que afectan el aislamiento e identificación de las bacterias, como el uso de antibióticos antes del muestreo, el hecho de que tal vez el patógeno no estaba presente en la articulación, o ya estaba eliminado en el momento del muestreo, donde las toxinas y los superantígenos pueden tener un papel destacado (83, 84) o condiciones de cultivo inadecuadas, para infecciones articulares bacterianas no comunes.

Más de la mitad de nuestros pacientes tenían *Staphylococcus aureus* como agente infeccioso, ya sea como único agente etiológico o en presencia de otros patógenos en articulaciones infectadas por múltiples microorganismos. Es bien sabido que este patógeno es la causa más común de las tres clases principales de infecciones osteoarticulares: artritis séptica articular nativa, osteomielitis e infecciones articulares periprotésicas (85). Esto probablemente se deba a las características especiales de la bacteria como las adhesinas que la hacen tener un tropismo especial para este tipo de tejido. Decidimos comparar dos métodos diferentes de detección de microbios, la técnica tradicional y el sistema de cultivo automatizado. Esto, mediante el uso del instrumento BD BACTEC FX40 con 1-3 ml de líquido sinovial, inoculado en viales de cultivo de medio BD Peds Plus. Usamos este tipo de viales por su tamaño de inóculo aceptado, 1-3 mL, que fue aproximadamente la cantidad de líquido sinovial obtenida de nuestros pacientes. En nuestros resultados, ambos métodos fueron capaces de detectar o no los agentes infecciosos sin una diferencia estadística significativa, con una congruencia total

del 70%. Esto, a diferencia del único otro estudio que realizó esta comparación encontrada por nuestro equipo, el cual indica un desempeño superior del sistema BACTEC sobre los métodos de cultivo tradicionales (86). Sin embargo, debemos tener en cuenta la diferencia de tamaño de la muestra, que fue menor en nuestro estudio.

Tradicionalmente, los recuentos de leucocitos de líquido sinovial se han utilizado como parámetro de diagnóstico para la enfermedad, pero debido a su falta de sensibilidad (87), decidimos utilizar específicamente el % de PMN, que se ha demostrado que es un marcador más sensible para la infección articular que el WBC (88). Los neutrófilos son células indispensables que forman la primera línea de defensa contra patógenos invasores en las primeras etapas de la infección (89). No es de extrañar que estas células fueran las más abundantes a nivel local de nuestros pacientes. Los PMN probablemente tienen un papel doble en la evolución de la enfermedad, siendo las células inmunitarias más cruciales para mejores tasas de supervivencia y una enfermedad menos grave, como se demuestra en un modelo experimental (90), y también por ser una causa de daño colateral en las articulaciones durante o después de la eliminación de patógenos (89).

El hecho de que los pacientes sin agente microbiológico aislado tuvieran también más neutrófilos que el grupo control puede llevarnos a pensar que no todos los cultivos negativos siempre significan ausencia de infección o patógeno. El papel de los monocitos durante una inflamación estéril no se ha estudiado completamente; sin embargo, este tipo de células pueden ser críticas en procesos inflamatorios para una adecuada cicatrización y recuperación de los tejidos (91). Todos nuestros sujetos controles fueron negativos para cultivo y tenían una enfermedad o lesión inflamatoria no infecciosa. No obstante, debemos considerar que el elevado porcentaje de monocitos en el grupo control también podría deberse a que se incluyeron pacientes con OA, enfermedad en la que los monocitos son las células dominantes (92).

Se ha demostrado que los niveles de leucocitos, VSG y PCR en sangre periférica por sí mismos tienen un potencial diagnóstico deficiente para la artritis séptica (93, 94). Esencialmente, la VSG y la PCR son marcadores de inflamación que pueden estar

presentes en altas concentraciones debido a muchos procesos inflamatorios. Entre éstos, la obesidad, que se ha descrito que tiene correlación con la inflamación a través del tejido adiposo (95) y probablemente la razón por la que encontramos una correlación positiva de la VSG con el IMC de los pacientes.

En consecuencia, una infección provocará un proceso inflamatorio que aumenta los niveles de estos reactantes de fase aguda, como se muestra en nuestros pacientes. Si bien estos marcadores inflamatorios fueron más altos en nuestros pacientes, comparados con los sujetos control, no se recomienda su uso como pruebas confiables para cambiar o tomar decisiones sobre el manejo de los pacientes (94) y definitivamente no como marcador de infección. Aunque nuestros pacientes con cultivo positivo mostraron los niveles más altos de PCR y VSG, en comparación con el grupo de control, no se encontraron diferencias con el grupo de pacientes con cultivo negativo.

En pacientes con un dolor articular atraumático agudo acompañado con limitaciones articulares funcionales, es necesaria una rápida exclusión de una etiología infecciosa intraarticular para prevenir un exceso de morbilidad y mortalidad (21, 96). Sin embargo, debido a que los hallazgos clínicos y de laboratorio a veces son engañosos y el aislamiento y la identificación bacterianos no siempre son posibles, evaluamos si los parámetros bioquímicos como la glucosa, el LE y el pH podrían usarse como criterios de diagnóstico adicionales rápidos y económicos para la artritis séptica. Esto fue debido a que los agentes etiológicos más comunes de la enfermedad son bacterias que consumen glucosa. La medición de glucosa durante los procesos articulares infecciosos se ha apreciado poco. Encontramos que las concentraciones de glucosa en líquido sinovial en el grupo control fueron más altas que las del grupo de pacientes y esta diferencia fue aún mayor, en comparación con el grupo de pacientes con cultivo positivo, lo que respalda la validez de otros estudios (26, 55).

Para verificar que esta disminución de glucosa se debió efectivamente al metabolismo bacteriano y local, comparamos las concentraciones de glucosa local en la articulación con las concentraciones séricas de los pacientes. Nuestros hallazgos mostraron que la medición cuantitativa de este parámetro se vio afectada en pacientes con un cultivo

positivo. Hasta donde sabemos, no existe ninguna otra afección médica de las articulaciones que pueda causar este drástico deterioro de los niveles de glucosa, ni siquiera afecciones inflamatorias no infecciosas como las de nuestro grupo de control. Estos hallazgos fueron apoyados al momento de determinar la esterasa leucocitaria en líquido sinovial, que presentó la mayor concentración en pacientes con cultivo positivo, indicativo de un proceso inflamatorio infeccioso activo. Dado que la enfermedad está asociada con un alto consumo local de glucosa y recuentos de glóbulos blancos, el microambiente local se verá afectado, a un pH menor (97). Esto último se corroboró en nuestro estudio en el que se encontró un pH más ácido en aquellos pacientes con cultivo positivo. Este cambio en el pH a nivel local podría tener implicaciones clínicas al afectar la eficacia de los antibióticos (98), inhibir la quimiotaxis y los mecanismos bactericidas de las células PMN, así como la proliferación de linfocitos y la actividad citotóxica (99, 100).

CONCLUSIÓN

Nuestros hallazgos demostraron que un perfil de IL-6, IL-8, TNF- α , IL-1 β y HMGB1, así como una baja concentración local de glucosa están asociados con la gravedad y el pronóstico de la artritis séptica.

PERSPECTIVAS

Como ocurre con la mayoría de los estudios, el diseño de la investigación actual está sujeto a limitaciones.

1. Una posible limitación fue el número de pacientes incluidos en la investigación, que debe ser mayor para obtener conclusiones más contundentes.
2. Otra limitación se refiere a los sujetos controles. Evitamos comportamientos poco éticos para obtener muestras de líquido sinovial de personas sanas sin patologías ni lesiones, ya que es un procedimiento doloroso e irónicamente puede causar artritis séptica. Por eso, además del grupo control inflamatorio de la osteoartritis, sujetos con desgarros de menisco y lesiones de ligamentos de rodilla, es necesario incluir pacientes con otro tipo de artritis no infecciosa como artritis gotosa para ampliar los biomarcadores de gravedad y pronóstico a otras enfermedades.

Este es el primer estudio que investiga el perfil de citocinas locales y sistémicas, en humanos con artritis séptica y su asociación con variables clínicas, bioquímicas de laboratorio y de calidad de vida durante el diagnóstico de la enfermedad y un año después.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. Lane Smith DJS, G. Kajiya, M. Mell and E. Gilkerson. The effect of antibiotics on the destruction of cartilage in experimental infectious arthritis. The Journal of Bone and Joint Surgery, Incorporated. 1987;69-A No 7.
2. Singh JA, Yu S. The burden of septic arthritis on the U.S. inpatient care: A national study. PloS one. 2017;12(8):e0182577.
3. Ferrand J, El Samad Y, Brunschweiler B, et al. Morbimortality in adult patients with septic arthritis: a three-year hospital-based study. BMC Infect Dis. 2016;16:239.
4. Al Arfaj AS. A prospective study of the incidence and characteristics of septic arthritis in a teaching hospital in Riyadh, Saudi Arabia. Clinical rheumatology. 2008;27(11):1403-10.
5. Doran MF, Crowson CS, Pond GR, et al. Frequency of infection in patients with rheumatoid arthritis compared with controls: a population-based study. Arthritis and rheumatism. 2002;46(9):2287-93.
6. Carola J. E. Kaandorp DVS, Pieta Krijgen, J. Dik F. Habbema, and Marta A. F. J. Van De Laar. Risk Factors for Septic Arthritis in Patients With Joint Disease Arthritis & Rheumatism 1995;38(12):1819-25.
7. Al-Ahaideb A. Septic arthritis in patients with rheumatoid arthritis. J Orthop Surg Res. 2008;3:33.
8. Goldenberg DL. Septic arthritis. The Lancet. 1998;351(9097):197-202.
9. Kaandorp CJ VSD, Krijnen P, Habbema JD, van de Laar, MA. Risk factors for septic arthritis in patients with joint disease. A prospective study. Arthritis Rheum 1995;1995, 38(12):1819–25.
10. Clerc O, Prod'hom G, Greub G, et al. Adult native septic arthritis: a review of 10 years of experience and lessons for empirical antibiotic therapy. J Antimicrob Chemother. 2011;66(5):1168-73.
11. Wei-Szu Chang N-CC, Hsin Chi, Wen-Chen Li, Fu-Yuan Huang. Comparison of the characteristics of culture-negative versus culture-positive septic arthritis in children. J Microbiol Immunol Infect. 2005;38;:189-93.
12. Hujazi I, Oni D, Arora A, et al. The fate of acutely inflamed joints with a negative synovial fluid culture. International orthopaedics. 2012;36(7):1487-92.
13. Priscila Maria Colavite-Machado LLWI, Thaís Graziela Donegá França, Sofia Fernanda Gonçalves Zorzella-Pezavento, Larissa Camargo da Rosa, Fernanda Chiuso-Minicucci, Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha, Gustavo Pompermaier Garlet and Alexandrina Sartor. Differential arthritogenicity of Staphylococcus aureus strains isolated from biological samples. BMC Infectious Diseases. 2013;13:1471-2334.
14. Edwards AM, Massey RC. How does Staphylococcus aureus escape the bloodstream? Trends Microbiol. 2011;19(4):184-90.
15. Hina Chaudhry JZ, Yin Zhong, Mir Mustafa Ali, Franklin Mcguire, Prakash S. Nagarkatti and Mitzi Nagarkatti. Role of Cytokines as a Double-edged Sword in Sepsis. in vivo. 2013;27:669-84.

16. Dey I, Bishayi B. Role of different Th17 and Treg downstream signalling pathways in the pathogenesis of Staphylococcus aureus infection induced septic arthritis in mice. *Exp Mol Pathol*. 2020;116:104485.
17. Dey I, Bishayi B. Role of Th17 and Treg cells in septic arthritis and the impact of the Th17/Treg -derived cytokines in the pathogenesis of S. aureus induced septic arthritis in mice. *Microbial pathogenesis*. 2017;113:248-64.
18. Ghosh C, Bishayi B. Toll-like receptor 2 and 6 interdependency in the erosive stage of Staphylococcus aureus induced septic arthritis mediated by IFN-gamma and IL-6--A possible involvement of IL-17 in the progression of the disease. *Immunobiology*. 2015;220(7):910-23.
19. Jun Wang¹ FZ, Xueli Zhao³, Yuanxin Pang⁴, Shibo Zhao⁵. IL-17A promotes osteoclast formation via inducing RANKL in synovial cells. *Int J Clin Exp Patho*. 2017;2017;10(6):6854-6860;2017;10(6):6854-60.
20. Steeve KT, Marc P, Sandrine T, et al. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2004;15(1):49-60.
21. Shirliff ME, Mader JT. Acute Septic Arthritis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2002;15(4):527-44.
22. Audet MC, McQuaid RJ, Merali Z, et al. Cytokine variations and mood disorders: influence of social stressors and social support. *Front Neurosci*. 2014;8:416.
23. Mommersteeg PM, Kupper N, Schoormans D, et al. Health-related quality of life is related to cytokine levels at 12 months in patients with chronic heart failure. *Brain Behav Immun*. 2010;24(4):615-22.
24. Costales C, Butler-Wu SM. A Real Pain: Diagnostic Quandaries and Septic Arthritis. *Journal of clinical microbiology*. 2018;56(2).
25. Katzap DLHaE. Approach to septic arthritis. *American Family Physician*. 2011;84(6):653-60.
26. Omar M, Reichling M, Liodakis E, et al. Rapid exclusion of bacterial arthritis using a glucometer. *Clinical rheumatology*. 2017;36(3):591-8.
27. Kinugasa M, Kobayashi D, Satsuma S, et al. The predictive value of synovial glucose level in septic arthritis. *J Pediatr Orthop B*. 2019.
28. De Vecchi E, Villa F, Bortolin M, et al. Leucocyte esterase, glucose and C-reactive protein in the diagnosis of prosthetic joint infections: a prospective study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2016;22(6):555-60.
29. Mundt LA, Shanahan K. Graff's Textbook of Routine Urinalysis and Body Fluids: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health; 2010.
30. Kedia-Mehta N, Finlay DK. Competition for nutrients and its role in controlling immune responses. *Nat Commun*. 2019;10(1):2123.
31. John M. Robinson MLKaJK. Glycogen accumulation in the polymorphonuclear leukocytes and other intracellular alterations that occur during inflammation. *The Journal Of Cell Biology* 1982;95:933-42.

32. Vitko NP, Grosser MR, Khatri D, et al. Expanded Glucose Import Capability Affords Staphylococcus aureus Optimized Glycolytic Flux during Infection. *mBio*. 2016;7(3).
33. Olof Hultgren MKaAT. Staphylococcus aureus-Induced Septic Arthritis and Septic Death Is Decreased in IL-4-Deficient Mice: Role of IL-4 as Promoter for Bacterial Growth. *The Journal of Immunology*. 1998;160:5082-7.
34. I. Gjertsson OHHAT. Interleukin-10 ameliorates the outcome of Staphylococcus aureus arthritis by promoting bacterial clearance. *Clin Exp Immunol*. 2002;130:409-14.
35. Olof Hultgren H-PE, Jonathon D. Sedgwick, Heinrich Körner and Andrzej Tarkowski. TNF/Lymphotoxin- α Double-Mutant Mice Resist Septic Arthritis but Display Increased Mortality in Response to Staphylococcus aureus. *The Journal of Immunology*. 1998;161:5937-42.
36. LUCIANA TISSI MP, 1 ROBERTA BARLUZZI,1 GRAZIELLA OREFICI,2 CHRISTINA VON HUNOLSTEIN,2 AND FRANCESCO BISTONI1. Role of Tumor Necrosis Factor Alpha, Interleukin-1 , and Interleukin-6 in a Mouse Model of Group B Streptococcal Arthritis. *INFECTION AND IMMUNITY*,. 1999.
37. Olof H Hultgren MSaAT. Role of IL-12 in Staphylococcus aureus-triggered arthritis and sepsis. *Arthritis Res*. 2000;3:41-7.
38. Hultgren OH, Svensson L, Tarkowski A. Critical Role of Signaling Through IL-1 Receptor for Development of Arthritis and Sepsis During Staphylococcus aureus Infection. *The Journal of Immunology*. 2002;168(10):5207-12.
39. Ali A, Na M, Svensson MN, et al. IL-1 Receptor Antagonist Treatment Aggravates Staphylococcal Septic Arthritis and Sepsis in Mice. *PloS one*. 2015;10(7):e0131645.
40. Proost P, Vynckier AK, Mahieu F, et al. Microbial Toll-like receptor ligands differentially regulate CXCL10/IP-10 expression in fibroblasts and mononuclear leukocytes in synergy with IFN-gamma and provide a mechanism for enhanced synovial chemokine levels in septic arthritis. *European journal of immunology*. 2003;33(11):3146-53.
41. Paul Proost SV, Kirsten Van de Borne, Evemie Schutyser, Sofie Struyf, Willy Put, Isabelle Ronsse, Bernard Grillet, Ghislain Opdenakker, and Jo Van Damme. Synergistic induction of CXCL9 and CXCL11 by Toll-like receptor ligands and interferon- in fibroblasts correlates with elevated levels of CXCR3 ligands in septic arthritis synovial fluids. *Journal of Leukocyte Biology*. 2004;75:777-84.
42. HeinzBaumann*andIrvingKushnert. Production of Interleukin-6 by Synovial Fibroblasts in Rheumatoid Arthritis. *American Journal of Pathology*. 1998;152.
43. Kim HR, Cho ML, Kim KW, et al. Up-regulation of IL-23p19 expression in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by IL-17 through PI3-kinase-, NF-kappaB- and p38 MAPK-dependent signalling pathways. *Rheumatology*. 2007;46(1):57-64.
44. Migita K, Koga T, Satomura K, et al. Serum amyloid A triggers the monosodium urate -mediated mature interleukin-1beta production from human synovial fibroblasts. *Arthritis research & therapy*. 2012;14(3):R119.
45. Sillat T, Barreto G, Clarijs P, et al. Toll-like receptors in human chondrocytes and osteoarthritic cartilage. *Acta orthopaedica*. 2013;84(6):585-92.

46. Gotoh H1 KY, Harigai M, Hara M, Saito S, Yamaguchi T, Shimada K, Kawamoto M, Tomatsu T, Kamatani N. Increased CD40 expression on articular chondrocytes from patients with rheumatoid arthritis: contribution to production of cytokines and matrix metalloproteinases. *J Rheumatol* 2004.
47. Yamaga BKTLMALHKKARKM. Cytokine mRNA repertoire of articular chondrocytes from arthritic patients, infants, and neonatal mice. *Rheumatology international*. 1996.
48. Talebi-Taher M, Shirani F, Nikanjam N, et al. Septic versus inflammatory arthritis: discriminating the ability of serum inflammatory markers. *Rheumatology international*. 2013;33(2):319-24.
49. Oddvar Oppegaard BS, Anne Kristine Halse, Nina Langeland. CD64 as a potential biomarker in septic arthritis. *BMC Infectious Diseases*. 2013;13:1471-2334.
50. Lenski M, Scherer MA. Synovial IL-6 as inflammatory marker in periprosthetic joint infections. *The Journal of arthroplasty*. 2014;29(6):1105-9.
51. Henningsson L, Jirholt P, Lindholm C, et al. Interleukin-17A during local and systemic *Staphylococcus aureus*-induced arthritis in mice. *Infection and immunity*. 2010;78(9):3783-90.
52. Inman RD, Chiu B. Early cytokine profiles in the joint define pathogen clearance and severity of arthritis in *Chlamydia*-induced arthritis in rats. *Arthritis and rheumatism*. 2006;54(2):499-507.
53. Martinon F, Aksentijevich I. New players driving inflammation in monogenic autoinflammatory diseases. *Nature reviews Rheumatology*. 2015;11(1):11-20.
54. Salliot C, Dougados M, Gossec L. Risk of serious infections during rituximab, abatacept and anakinra treatments for rheumatoid arthritis: meta-analyses of randomised placebo-controlled trials. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(1):25-32.
55. Omar M, Ettinger M, Reichling M, et al. Preliminary results of a new test for rapid diagnosis of septic arthritis with use of leukocyte esterase and glucose reagent strips. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2014;96(24):2032-7.
56. Lenski M, Scherer MA. Diagnostic potential of inflammatory markers in septic arthritis and periprosthetic joint infections: a clinical study with 719 patients. *Infectious diseases*. 2015;47(6):399-409.
57. Manathip Osiri KR, Somboon Nookhai, Yasukazu Ohmoto and, Deesomchok U. IL-1 β IL-6 and TNF α in Synovial Fluid of Patients with Non-Gonococcal Septic Arthritis. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*. 1998;16:155-60.
58. K Yoshida KK, N Yamagata, H Iwabuchi, T Katsura, S Sugihara, M Negishi, H Ide, Y Mori, T Takahashi. Inflammatory cytokines and enzymes in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis and other arthritides. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992;98:286-92.
59. Zhou Z, Han JY, Xi CX, et al. HMGB1 regulates RANKL-induced osteoclastogenesis in a manner dependent on RAGE. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2008;23(7):1084-96.
60. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*. 2007;81(1):1-5.

61. Sandquist I, Kolls J. Update on regulation and effector functions of Th17 cells. *F1000Res*. 2018;7:205.
62. Tecchio C, Micheletti A, Cassatella MA. Neutrophil-derived cytokines: facts beyond expression. *Frontiers in immunology*. 2014;5:508.
63. John M. Robinson MLKaMJK. Glycogen accumulation in polymorphonuclear leukocytes, and other intracellular alterations that occur during inflammation. *J Cell Biol*. 1982;95:933–42.
64. Turner EHG, Lang MDH, Spiker AM. A narrative review of the last decade's literature on the diagnostic accuracy of septic arthritis of the native joint. *J Exp Orthop*. 2021;8(1):3.
65. Xie K, Dai K, Qu X, et al. Serum and Synovial Fluid Interleukin-6 for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. *Scientific reports*. 2017;7(1):1496.
66. Michaud M, Balardy L, Moulis G, et al. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J Am Med Dir Assoc*. 2013;14(12):877-82.
67. S X Zheng YV, M Lopez, D De Groote, P F Zangerle, J Collette, N Franchimont, V Geenen, A Albert, J Y Reginster. Increase in cytokine production (IL-1 beta, IL-6, TNF-alpha but not IFN-gamma, GM-CSF or LIF) by stimulated whole blood cells in postmenopausal osteoporosis. *Maturitas*. 1997;26:63-71.
68. Bo Abrahamsen VB-N, Ebbe Nils Ebbesen, Jeppe Gram, and Henning Beck-Nielsen. Cytokines and Bone Loss in a 5-Year Longitudinal Study—Hormone Replacement Therapy Suppresses Serum Soluble Interleukin-6 Receptor and Increases Interleukin-1—Receptor Antagonist: The Danish Osteoporosis Prevention Study*. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2000;15:1545-54.
69. Cauley JA, Danielson ME, Boudreau RM, et al. Inflammatory markers and incident fracture risk in older men and women: the Health Aging and Body Composition Study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2007;22(7):1088-95.
70. Lee G, Espirito Santo AI, Zwingenberger S, et al. Fully reduced HMGB1 accelerates the regeneration of multiple tissues by transitioning stem cells to GAlert. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018;115(19):E4463-E72.
71. Fu GX, Chen AF, Zhong Y, et al. Decreased serum level of HMGB1 and MyD88 during human aging progress in healthy individuals. *Aging Clin Exp Res*. 2016;28(2):175-80.
72. Donaldson AD, Jalaludin BB, Chan RC. Patient perceptions of osteomyelitis, septic arthritis and prosthetic joint infection: the psychological influence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Intern Med J*. 2007;37(8):536-42.
73. Szczesniak D, Gladka A, Misiak B, et al. The SARS-CoV-2 and mental health: From biological mechanisms to social consequences. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2021;104:110046.
74. Roque S, Correia-Neves M, Mesquita AR, et al. Interleukin-10: a key cytokine in depression? *Cardiovasc Psychiatry Neurol*. 2009;2009:187894.
75. Zampronio AR SG, Silva CA, Cunha FQ, Ferreira SH. Interleukin-8 induces fever by a prostaglandin-independent mechanism. *Am J Physiol*. 1994;266:1670-4.

76. Mansur RB, Cunha GR, Asevedo E, et al. Association of serum interleukin-6 with mental health problems in children exposed to perinatal complications and social disadvantage. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;71:94-101.
77. Ting EY, Yang AC, Tsai SJ. Role of Interleukin-6 in Depressive Disorder. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(6).
78. Mondloch MV CD, Frank JW. Does how you do depend on how you think you'll do? A systematic review of the evidence for a relation between patients' recovery expectations and health outcomes. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 2001;165:174-9.
79. Petrie KJ WJ, Sharpe N, Buckley J. Role of patients' view of their illness in predicting return to work and functioning after myocardial infarction: longitudinal study. *BMJ*. 1996;312:1191-4.
80. Frostholm L, Fink P, Christensen KS, et al. The patients' illness perceptions and the use of primary health care. *Psychosom Med*. 2005;67(6):997-1005.
81. Idler EL KS. Health perceptions and survival: do global evaluations of health status really predict mortality? *J Gerontol*. 1991;46:S55-65.
82. Sydney Nade DSc M, MB, BSc (MEd), FRCS, FRACS, MRCP (UK). *Septic arthritis. Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2003;17:183-200.
83. Ali A, Zhu X, Kwiecinski J, et al. Antibiotic-killed *Staphylococcus aureus* induces destructive arthritis in mice. *Arthritis & rheumatology*. 2015;67(1):107-16.
84. Samileh Noorbakhsh MT-T, Azardokht Tabatabaei. Identification of bacterial antigens and super antigens in synovial fluid of patients with arthritis: a cross sectional study. *Medical Journal of Islamic Republic of Iran*. 2013;27(1):12-6.
85. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28(3):603-61.
86. Hughes JG, Vetter EA, Patel R, et al. Culture with BACTEC Peds Plus/F bottle compared with conventional methods for detection of bacteria in synovial fluid. *Journal of clinical microbiology*. 2001;39(12):4468-71.
87. McGillicuddy DC, Shah KH, Friedberg RP, et al. How sensitive is the synovial fluid white blood cell count in diagnosing septic arthritis? *The American journal of emergency medicine*. 2007;25(7):749-52.
88. Baran S, Price C, Hak DJ. Diagnosing joint infections: synovial fluid differential is more sensitive than white blood cell count. *European journal of orthopaedic surgery & traumatology : orthopedie traumatologie*. 2014;24(8):1469-74.
89. Boff D, Crijns H, Teixeira MM, et al. Neutrophils: Beneficial and Harmful Cells in Septic Arthritis. *International journal of molecular sciences*. 2018;19(2):468.
90. Jin T, Mohammad M, Hu Z, et al. A novel mouse model for septic arthritis induced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific reports*. 2019;9(1):16868.
91. Spahn JH, Kreisel D. Monocytes in sterile inflammation: recruitment and functional consequences. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2014;62(3):187-94.
92. Yulin Chen WJ, Huang Yong, Miao He, Yuntao Yang, Zhenhan Deng, Yusheng Li. Macrophages in osteoarthritis: pathophysiology and therapeutics. *Am J Transl Res*. 2020;12(1):261-8.

93. Li SF, Cassidy C, Chang C, et al. Diagnostic utility of laboratory tests in septic arthritis. *Emergency medicine journal : EMJ*. 2007;24(2):75-7.
94. Carpenter CR, Schuur JD, Everett WW, et al. Evidence-based diagnostics: adult septic arthritis. *Acad Emerg Med*. 2011;18(8):781-96.
95. Elbossaty WF. The Role of Adipose Tissue in Elevate ESR Level in Obese Persons. *Arch Blood Transfus Disord*. 2017;1(1).
96. M. Favero FS, L. Riato, V. Carraro, L. Punzi. Septic arthritis: a 12 years retrospective study in a rheumatological university clinic. *Reumatismo*. 2008;60(4):260-7.
97. M.D.* TTWMDRTS. Acidosis of Synovial Fluid Correlates with Synovial Fluid Leukocytosis. *he American Journal of Medicine*. 1978;64.
98. E. P. Abraham ESD. Effect of ph of the medium on activity of streptomycin and penicilin and other chemotherapeutic substances *The Lancet*. 1946.
99. Lardner A. The effects of extracellular pH on immune function. *Journal of Leukocyte Biology*. 2001;69.
100. Kellum JA, Song M, Li J. Science review: extracellular acidosis and the immune response: clinical and physiologic implications. *Critical care*. 2004;8(5):331-6.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Jorge Armando González Chapa

Candidato para el grado de

Doctor en Ciencias con Especialidad en Inmunología

Tesis: MEDIADORES INMUNOLÓGICOS COMO BIOMARCADORES DE GRAVEDAD Y DE PRONÓSTICO EN PACIENTES CON ARTRITIS SÉPTICA

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacido en Coahuila de Zaragoza el 6 de enero de 1989.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Médico Cirujano y Partero en 2014 y Maestro en Ciencias con Orientación en Inmunología Médica en 2017.

Experiencia Profesional: Profesor de Fisiología Médica en Cruz Roja Mexicana 2014. Estancia de Investigación en Universidad Texas Tech 2017 y Universidad de Hamburgo 2019.